

VÝVOJ NANOVLÁKENNÉHO DRÉNU PRO LÉČBU GLAUKOMU

Diplomová práce

Studijní program: N3106 – Textilní inženýrství
Studijní obor: 3106T018 – Netkané a nanovláknenné materiály

Autor práce: Bc. David Hartig
Vedoucí práce: Ing. Petr Mikeš, Ph.D.



TECHNICAL UNIVERSITY OF LIBEREC
Faculty of Textile Engineering



DEVELOPMENT OF NANOFIBROUS DRAIN FOR GLAUCOMA TREATMENT

Diploma thesis

Study programme: N3106 – Textile Engineering
Study branch: 3106T018 – Nonwoven and Nanomaterials

Author: Bc. David Hartig
Supervisor: Ing. Petr Mikeš, Ph.D.



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: David Hartig
Osobní číslo: T13000553
Studijní program: N3106 Textilní inženýrství
Studijní obor: Netkané a nanovláknenné materiály
Název tématu: Vývoj nanovláknenného drénu pro léčbu glaukomu
Zadávající katedra: Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů

Z á s a d y p r o v ý p r a c o v á n í :

1. Vypracování rešerše na zadané téma.
2. Výběr vhodného polymeru a rozpouštědlového systému pro výrobu nanovláknenného drénu.
3. Vývoj a výroba vhodného nanovláknenného drénu.
4. Studium transportu kapalin ve vyrobených útvarech a jejich zhodnocení.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- 1) FLAMMER, J., 2003. Glaukom. Praha: TRITON. 417 s. ISBN 8072543512.
- 2) PAN, N., GIBSON, P. 2006. Thermal and moisture transport in fibrous materials. CRC Press. 632 s. ISBN 1845690571.
- 3) KUCHYNKA, P., a kol., 2007. Oční lékařství. Grada. 768 s. ISBN 8024711638.
- 4) BAČÁKOVÁ, L., a kol., 2011. Modulation of cell adhesion, proliferation and differentiation on materials designed for body implants. Biotechnology Advances. Vol 29, no. 6, s. 739 -767.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Petr Mikeš, Ph.D.

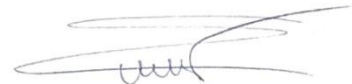
Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů

Datum zadání diplomové práce: **17. června 2014**

Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2015**



Ing. Jana Drašarová, Ph.D.
děkanka



prof. RNDr. David Lukáš, CSc.
vedoucí katedry

V Liberci dne 17. června 2014

Prohlášení

Byl jsem seznámen s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Diplomovou práci jsem vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum: 18. 5. 2015

Podpis: David Hartig

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych chtěl poděkovat vedoucímu své diplomové práce Ing. Petru Mikešovi Ph.D. a konzultantce Ing. Andree Klápšťové za cenné rady a věcné připomínky při vypracování této diplomové práce.

Poděkování patří také Ing. Pavlu Pokornému Ph.D. a Ing. Filipu Sanetrníkovi za pomoc

a rady při sestrojení přípravků k praktické části této práce. Díky patří i celé katedře netkaných textilií a nanovláknenných materiálů na Technické univerzitě v Liberci.

V neposlední řadě bych rád poděkoval mé rodině, zejména přítelkyni za pomoc a psychickou podporu během doby mého studia.

Anotace

Diplomová práce se zabývá vývojem nanovláknenného drénu pro léčbu glaukomu. V teoretické části práce jsou popsány důležité vlastnosti použitých polymerních materiálů. Následuje vysvětlení důležitých pojmů vyskytujících se v praktické části. Jedná se o buněčnou adhezi a zkoumání transportu kapalin. V praktické části jsou uvedeny použité polymerní látky (PVA, PVDF a PVDF s PEO) a rozpouštědlové systémy. Je zde diskutován vliv podmínek na elektrostatické zvlákňování na speciální kolektor, které mají zásadní vliv na tvorbu defektů a velikost průměru vláken. Dále se tato část věnuje odstranění defektů ze struktury tubulu. V závěru je pak popsána výroba příze z paralelizovaných vláken.

Klíčová slova: Elektrostatické zvlákňování, speciální kolektor, polyvinylidenfluorid s polyethylenoxidem, polyvinylalkohol, paralelizovaná vlákna, nanopříze

Annotation

The thesis deals with the development of nanofibers drain for the treatment of glaucoma. The theoretical part explains important properties of polymeric materials. The following is an explanation of important concepts found in the practical part. These are cell adhesion and examining transporting liquids. In the practical part are presented the used polymeric materials (PVA, PVDF and PVDF with PEO) and solvent systems. There are discussed influence of conditions on electrospinning on the special collector which are having a major impact on the formation of defects and the size of the diameter of the fibers. Furthermore, this section discusses removal of defects from the structure tubule. At the end are described the production of yarn parallelized fibers.

Keywords: Electrospinning, special collector, polyvinylidene fluoride with polyethylene oxide, polyvinyl alcohol, parallelized fibers, nanoyarn

Obsah

Anotace	6
Seznam zkratek	9
Úvod	11
1 Teoretická část	12
1.1 Poruchy zraku	12
1.2 Glaukom	12
1.2.1 Glaukomové poškození.....	12
1.2.2 Nitrooční tlak a komorová voda	13
1.2.3 Měření nitroočního tlaku:.....	13
1.2.4 Zvýšený nitrooční tlak	14
1.3 Typy glaukomu	14
1.3.1 Primární glaukom	15
1.3.2 Sekundární glaukom	17
1.4 Rizikové faktory vzniku glaukomu	17
1.5 Metody vyšetření.....	17
1.5.1 Perimetrické vyšetření	18
1.5.2 Gonioskopie	18
1.5.3 Vyšetření zřetězení terče.....	18
1.6 Léčba	19
1.6.1. Konzervativní léčba	19
1.6.2 Laserová léčba.....	19
1.6.3 Chirurgická léčba.....	20
1.7 Drenážní Implantáty	21
1.7.1 Ex-press mini-glaukoma shunt (kanaloplastika)	21
1.7.2 Molteno Shunt	22
1.7.3 Implantát Baerveldt a Ahmed.....	23
1.7.4 Hluboká sklerektomie s kolagením implantátem	23
2 Buněčná adheze	24
2.1 Schéma buněčné adheze	24
2.2 Smáčivost povrchu	26
Požadavky na umělé nosiče	26

Povrch materiálu	26
2.3 Transport kapalin	27
2.3.1 Viskozita a laminární proudění (Newtonská kapalina)	27
2.3.2 Proudění viskózní tekutiny	28
2.3.3 Poiseuillův zákon	29
2.3.4 Darcyho zákon	30
2.3.5 Vzlínatost kapaliny	31
2.4 Materiály pro výrobu drénu	32
2.4.1 Polyvinylidenfluorid	32
2.4.2 Polyvinylalkohol	34
2.4.3 Polyethylenoxid	36
2.5 Elektrostatické zvlákňování	37
3 Experimentální část	38
3.1 Výběr vhodného polymerního materiálu	38
Test DAPI	38
Test Live/Dead (LD)	38
Test Propidium jodid (PI)	39
Snímky z fluorescenčního mikroskopu	39
3.2 Použité polymerní materiály	41
3.3 Výběr rozpouštědlového systému	41
3.4 Výroba a vývoj nanovláknenného drénu	42
3.4.1 Rotující kolektor	42
3.4.2 Podmínky při zvlákňování	42
3.4.3 Zvlákňování PVA	43
3.5 Vymývání PEO	56
3.6 Měření transportu kapaliny	56
3.7 Měření sorpce	57
3.8 Výroba příze	59
3.8.1 Příprava paralelizovaných vláken	60
Shrnutí	64
Závěr	65
Literatura	67
Přílohy	69

Seznam zkratek

$\partial/\partial y$	parciální derivace podle y
$^{\circ}\text{C}$	jednotka teploty, stupně celsia
A	plocha [m^2]
DI	drenážní implantát
D_I	první invariant tenzoru rychlosti deformace
DK	drenážní kanyla
DMAC	dimethylacetamid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
d_w/d_y	derivace rychlosti podle y (gradient)
ECM	extracelulární hmota
F	značka síly [N]
g	gram
g/mol	molární hmotnost
h	vzdálenost dvou vrstev
Hg	rtuť
m/s	jednotka rychlosti
min	minuta
ml	mililitr
ml/h	mililitr za hodinu
m_m	hmotnost suchého materiálu [g]
mm/ Hg	výška rtuťového sloupce
mm^2	milimetry čtverečné
m_s	hmotnost material a nasáklé kapaliny [g]
NT	nitrooční tlak
obr.	obrázek
P	značka tlaku [Pa]

PBS	programovaná buněčná smrt
PEG	polyethylenglykol
PEO	Polyethylenoxid
PVA	polyvinylalkohol
PVDF	Polyvinyliden - fluorid
Q	objemový průtok [m^3/s]
RH	relativní vlhkost
SEM	rastrovací elektronový mikroskop
t	čas [s]
torr	označení pro výšku rtuťového sloupce
tzv.	takzvaný
v	rychlost [m/s]
ZNT	zvýšený nitrooční tlak
ν	kinematická viskozita [m^2/s]
Δp	rozdíl tlaků [Pa]
η	dynamická viskozita
μm	mikrometr (10^{-6})
ρ	hustota [$\text{kg}\cdot\text{m}^3$]
σ	celkové napětí [Pa]
τ	tečné (smykové) napětí [Pa]

Úvod

Glaukomové poškození je označení pro širokou škálu onemocnění. Jedná se o velmi komplikované onemocnění, kterým po celém světě trpí více než 91 milionů pacientů. Jeho hlavní nebezpečí spočívá v pozdní diagnóze, kdy bývá zrak už značně poškozen. Proto je velmi důležité předpovídat rizikové faktory, z nichž jako nejdůležitější je označován zvýšený nitrooční tlak a dále dědičné faktory.

Pokud se ale nepodaří včasné diagnostikovat glaukom a tím pádem předejít poškození zraku, je ve většině případů kladen důraz na okamžité snížení nitroočního tlaku, čímž se zabráňuje dalšímu zrakovému poškození. V současné době existuje mnoho metod pro snížení nitroočního tlaku. Od konzervativních metod za použití očních kapek, přes laserovou léčbu, kdy je pomocí laserového paprsku vytvořen otvor pro odtok nitrooční tekutiny. Poslední metodou jsou chirurgické zákroky, k nimž je přistoupeno tehdy, pokud předešlé neinvazivní zákroky selžou.

Chirurgické zákroky dělíme na penetrující operace, kdy je odstraněna část tkáně oka, která brání v proudění nitrooční tekutiny, nebo nepenetrující operace, kdy je místo odstranění tkáně aplikován implantát. V současnosti je na trhu mnoho implantátů, které ale nejsou finančně dostupné pro všechny pacienty. Smyslem této práce je vytvoření vláknenného drénu, který bude plnit požadované vlastnosti a bude dostupnější pro více pacientů. Zároveň je snahou vybrat polymerní materiál, který potlačuje fibrotizaci. To se jeví problémem některých současně používaných implantátů, kdy postupem času dojde k jejich fibrotizaci a tím snížení účinnosti.

Nespornou výhodou materiálů, vyrobených pomocí elektrostatického zvlákňování, je možnost přidání požadovaných funkčních látek do polymerního roztoku. Tím je docíleno jejich pravidelného rozložení v celé struktuře, což se ve většině případů jeví jako značná výhoda.

1 Teoretická část

Léčba zabývající se poruchami zraku (oftalmologie) je velmi složitá a v mnohých případech komplikovaná, proto je kladen důraz na neustálé zlepšování léčebných postupů a tím i vývoj používaných implantátů. Poruchou zraku je označován stav, kdy oko neplní správně svou funkci nebo tuto funkci plní pouze omezeně. Poruchy mohou být buď vrozené, nebo získané. Vrozené bývají dědičné nebo k nim jsou v rodině jisté předpoklady. Při včasné diagnóze, zejména v dětském věku je možné některé trvalé následky zcela eliminovat. Všeobecně při včasné diagnóze a zahájení léčby očního problému je šance na jeho úplné uzdravení nebo na co nejmenší trvalé poškození [1].

1.1 Poruchy zraku

Nejčastější poruchou zraku je krátkozrakost (myopie), respektive dalekozrakost (hypermetropie). Těmito poruchami zraku trpí přibližně 40% populace. Léčba je v tomto případě řešena pomocí dioptrických brýlí nebo kontaktních čoček. Další oční poruchou je šedý zákal (katarakta) kdy se jedná o zamlžení čočky. Dále Glaukom, ve kterém je hlavní příčinou zhoršeného vidění zvýšený nitrooční tlak, který způsobí postupnou a pomalou ztrátu vidění vlivem poškození nervových vláken zrakového nervu. Touto oční poruchou trpí až 91 milionů světové populace. Právě o tomto problému bude podrobně pojednáno dále, jelikož to úzce souvisí s tématem této práce [1].

1.2 Glaukom

Termín glaukom je označení pro široké spektrum očních nemocí. Zahrnuje jak nemoci způsobené zvýšeným nitroočním tlakem, tak i nemoci, při nichž dochází k trvalému poškození zrakového nervu a postupné ztrátě zraku. Název glaukom je odvozený ze starořeckého slova „*glaukos*“, což znamená „*modrošedý*“. Z hlediska medicíny bohužel nejsou dochovány informace o první diagnostice tohoto onemocnění. Lidový název pro glaukom je „zelený zákal“. Nicméně je třeba zdůraznit, že se o žádný zákal nejedná, ale právě o onemocnění popsané výše [2, 3].

1.2.1 Glaukomové poškození

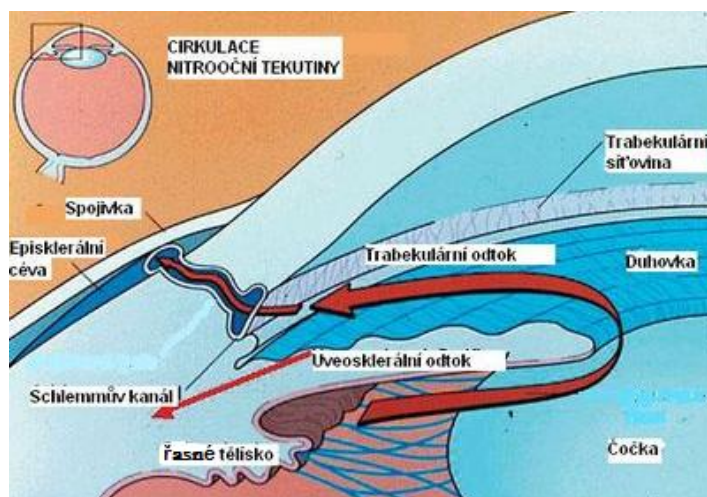
U glaukomu dochází k postupnému odumírání nervových buněk a nervových vláken. Tím dochází k narušení spojení mezi okem a mozkiem. Oko stále rozezná světlo od tmy, jelikož tyčinky a čípky jsou stále funkční, nicméně přenos zrakového vjemu do mozku je přerušen. Oko plní správnou funkci tehdy, když dopadající světlo na sítnici je

transformováno pomocí fotoreceptorů na elektrické nervové impulsy, které je mozek schopen zpracovat. Změny na fotoreceptorech (tyčinkách a čípcích) jsou předány buňkám sítnice (axonům), odkud je zraková informace vyslána optickým nervem do mozku [2].

1.2.2 Nitrooční tlak a komorová voda

Jelikož nitrooční tlak je úzce spojen se vznikem glaukomového poškození, bude mu věnována pozornost. Z fyzikálního hlediska není nitrooční tlak (NT) nic jiného než rozdíl mezi tlakem uvnitř oka a tlakem atmosférickým. Tento tlak je vyvolán tvorbou a cirkulací komorové vody. Jedná se o čirou tekutinu vyplňující přední a zadní oční komoru. Komorová voda má za úkol rovněž zajistit výživu čirým optickým strukturám přední komory – čočky a rohovce. Vzniká v řasném tělisku umístěném v zadní komoře sekrecí z krevní plazmy [2, 3].

Komorová voda proudí skrz zornici do přední komory. Odtud část nitrooční tekutiny odchází trabekulární síťovinou do Schlemmova kanálu rychlostí 2-3 ml/min. Tento kanál umístěný na hranici rohovky a skléry odvádí nitrooční tekutinu do krevního řečiště. Pokud vše funguje jak má, je nitrooční tlak v rozmezí 10 - 21 mm Hg. NT je udáván v mm Hg, což znamená výšku rtuťového sloupce. Je možno se setkat i s označením torr, což je právě 1 mm Hg. [2, 3, 4].



Obr. 1: Znáznornění cirkulace nitrooční tekutiny „řezem oka“ [2].

1.2.3 Měření nitroočního tlaku:

Dnes je nejpoužívanější metodou k určení nitroočního tlaku bezkontaktní tonometrie. Jedná se o prudké fouknutí vzduchu (rychlostí 1-3 m/s) do vyšetřovaného oka. Její princip je založen na měření oploštění rohovky. Čím vyšší je NT, tím dojde k menšímu oploštění rohovky [3].

Nejpřesnější metodou je pak Aplanační tonometrie. Jedná se o méně používanou metodu, jelikož je třeba znecitlivění oka. Její základ je založen na Imbertův-Fickově zákoně:

$$P = F/A \quad (1)$$

Kde P – nitrooční tlak v mm Hg, F je síla působící na oko a A je oploštěná plocha.

Tento zákon obecně platí pro suché kulové těleso s nekonečně tenkou stěnou. Goldmann a Schmidt zjistili, že u oka lze tloušťku bulbu, jeho odpudivou a adhezivní sílu slzného aparátu za určitých podmínek (průměr velikosti aplanované plochy 3,06 mm), považovat za vyrovnanou. Právě za těchto podmínek se dá jednoduše určit nitrooční tlak. Hmotnost závaží 1 g potřebný k oploštění rohovky se rovná 10 mm Hg nitroočního tlaku [4].

Při zjištění zvýšeného nitroočního tlaku je třeba pro určení diagnózy glaukomu provést čtyřadvacetihodinové sledování tlaku, ze kterého je sestavena křivka. Nitrooční tlak se totiž v průběhu dne mění, rozdíl může být i 6 mm Hg. Podle sestavené křivky lze pak diagnostikovat glaukom [3].

1.2.4 Zvýšený nitrooční tlak

Jak už bylo vysvětleno výše, glaukom je způsoben ve většině případů zvýšeným nitroočním tlakem. Tento problém je způsoben především zvýšenou produkcí nitrooční tekutiny nebo snížením drenážní kapacity komorového úhlu patrné z „obrázku 2“. Může dojít i ke spojení jednotlivých problémů. Jednoduše lze tvrdit, že zvýšený nitrooční tlak je způsobený narušením rovnováhy mezi tvorbou a vstřebáváním nitrooční tekutiny [3, 4].

1.3 Typy glaukomu

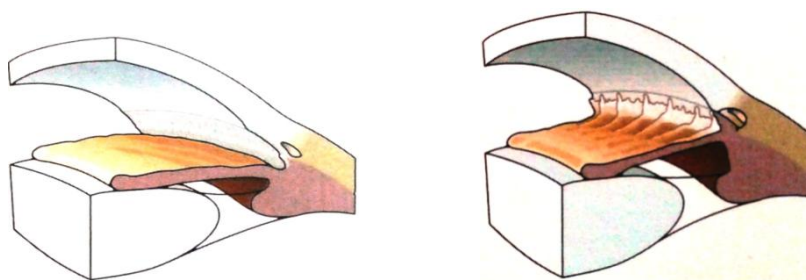
Podle příčiny vzniku dělíme glaukom na primární, sekundární a vývojový. Někdy se můžeme setkat ještě s podrobnějším rozdělením, kdy jsou jednotlivé anamnézy ještě doplněny o příčiny onemocnění, tzv. glaukom s otevřeným úhlem a glaukom s uzavřeným úhlem. Toto rozdělení je jen hrubým přehledem. Dělení má další podskupiny, z nichž nejčastěji se vyskytující budou dále diskutovány. Je ještě třeba zdůraznit, že zvýšený nitrooční tlak nemusí znamenat nevratné poškození zrakového nervu. Hraniční hodnota 21 mm Hg, je pouze orientační, proto je třeba důkladné diagnostiky u každého pacienta [2, 3, 4].

1.3.1 Primární glaukom

Mezi primární glaukom s otevřeným úhlem řadíme onemocnění vrozená, se kterými se člověk může již narodit (kongenitální glaukom), nebo která se projeví několik let od narození (infaltivní glaukom). Tyto glaukomy nejsou příliš často vyskytující se chorobou, nicméně při jejich pozdní diagnóze hrozí vážné poškození zraku. V opačném případě, kdy je onemocnění odhaleno včas, je vysoká šance na jeho vyléčení bez trvalých následků. Nejčastěji se však glaukomové poškození začíná projevovat s rostoucím věkem, zejména po čtyřicátém roce života. To je způsobené zejména zvýšeným odporem trabekulární síťoviny, která je důležitá pro odvádění nitrooční tekutiny [2, 3].

Kongenitální glaukom

Je vzácný typ glaukomu, vyskytující se již od narození nebo se jeho projev objeví už několik týdnů po narození. Jedná se o zvýšený nitrooční tlak vlivem nedostatečně vyvinuté trabekulární síťoviny a komorového úhlu. I přesto, že u těchto dětí je tvorba nitrooční tekutiny v normálu, vlivem nedostatečného vývoje výše zmíněného dochází k nesprávnému odvodu nitrooční tekutiny a tím i ke zvýšenému nitroočnímu tlaku (ZNT). Tento glaukom vzniká podobně jako u dospělých, nicméně tu je hrozba dalších následků, (kromě porušení zřakového nervu). Kvůli tomu, že je oko v dětském věku elastické, hrozba spočívá také v tvorbě trhlinek na méně elastické rohovce, které se projevuje zakalením rohovky. Tento problém lze mimo zakalení rohovky, nadměrné tvorby slz a světloplachosti poznat také dle výrazně větších očí postiženého jedince oproti jeho vrstevníkům. Pokud se stejný problém vyskytne v dospělosti, je nazýván jako juvenilní glaukom. Na „obrázku 2“ je znázorněn nevyvinutý komorový úhel v porovnání s komorovým úhlem vyvinutým [2,3,5].



Obr. 2: Vlevo je komorový úhel v pořádku, vyvinutý. Vpravo je komorový úhel nedostatečně vyvinutý.[2]

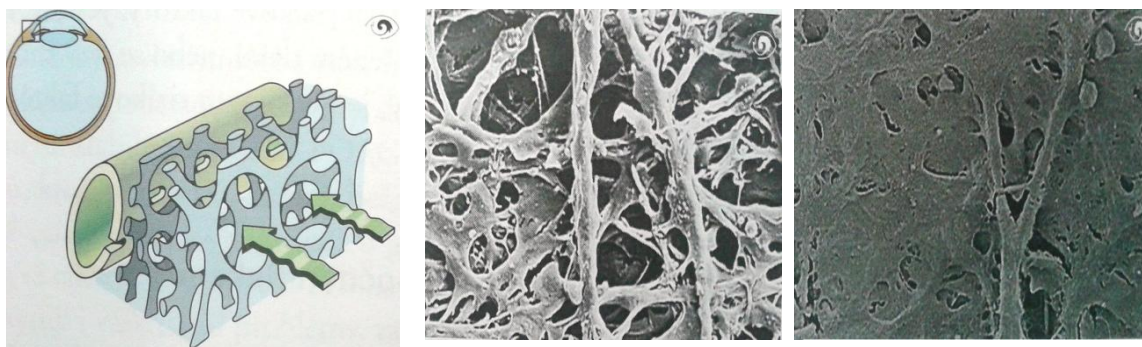
Infaltivní glaukom

Jedná se v podstatě o stejný princip onemocnění, jako v případě výše popsaného kongenitálního glaukomu v kap. kongenitální glaukom. Rozdíl je ale v tom, že komorový úhel „obrázek 2“ vpravo je vyvinutější. Proto ke zvýšení nitroočního tlaku dochází až v prvních letech života. Komorový úhel se vyvíjí do 2. – 4. roku života, proto se právě v tomto věkovém rozmezí setkáme s tímto typem infaltivního glaukomu [5].

Jelikož už není oko elastické, odpadá nebezpečí poranění rohovky. Zvýšený nitrooční tlak už není možné poznat ani podle zvětšených očí. Zde je už pro odhalení potřeba profesionálního očního vyšetření u očního lékaře, jelikož příznaky jsou velmi podobné těm u glaukomu vyskytujícím se v pozdějším dospělém věku. Rozdíl rozeznatelný pro laika je pouze v některých případech doprovázen šilháním [2].

Vývojový glaukom

Příčiny zvýšeného nitroočního tlaku již byly popsány dříve, proto se nyní zaměříme na jejich podrobné vysvětlení. Tento typ glaukomu se řadí mezi chronický glaukom s otevřeným úhlem. To znamená, že komorový úhel mezi rohovkou a duhovkou je otevřený a nitrooční tekutina tak zde může proudit. Problém je v tom, že zejména s rostoucím věkem dochází k postupnému zanášení trabekulární síťoviny, jak je zřejmé z „obrázku 3“. Jedná se o část oka přední komory, odkud tekutina míří do Schlemmova kanálu a odtud se vstřebává do krevního řečiště. Jak už bylo dříve řečeno za hraniční hodnotu normálního nitroočního tlaku je považováno 21 mm Hg. Při tomto problému nitrooční tlak dosahuje hodnot od 30 do 40 mm Hg. Ani takto vysoký tlak nepůsobí pacientovi bolest a zpočátku si nevšimne ani s tím spojené poruchy vidění [2, 3, 5].



Obr. 3: Vlevo je šipkami znázorněn odtok nitrooční tekutiny trabekulární síťovinou do Schlemmova kanálu. Uprostřed je snímek trabekulární síťoviny zdravého jedince a vpravo u pacienta s glaukomem. [2]

Často se na diagnózu přijde až při rutinní prohlídce. Tento typ glaukomu je nejčastěji se vyskytující u starších pacientů, zejména nad 40 let. Na „obrázku 3“ je znázorněno zanášení trabekulární síťoviny se zvyšujícím se věkem [2, 3, 5].

Glaukom s uzavřeným úhlem

Je třeba zdůraznit, že může být různých příčin (primární, sekundární). Jedná se o glaukom způsobený uzavřením komorového úhlu buď částečně, nebo úplně. To zapříčiní vysoký nárůst nitroočního tlaku až k hodnotám 70 mm Hg. Tento problém může být doprovázen bolestmi hlavy a očí, někdy se projeví i žaludečními křečemi a zvracením. Oči při něm jsou zašedlé a pacient má zamlžené vidění. Jedná se o méně rizikový případ než v případě glaukomu s otevřeným úhlem a to i přesto, že tlak může dosáhnout tak vysokých hodnot. Je to díky tomu, že je záchvat doprovázen prudkými bolestmi a pacient vyhledá v blízké době lékařské ošetření [2, 3, 4].

1.3.2 Sekundární glaukom

Sekundárním glaukomem se rozumí onemocnění, které nijak nesouvisí s rizikovými faktory vzniku primárního glaukomu, čili k němu nejsou žádné dědičné předpoklady. Jedná se o nemocnění, které je důsledkem častých onemocnění vlivem jakéhokoli podnětu, poranění nebo operace oka. Může vzniknout i jako odpověď na léčbu silnými miotiky, které se používají k zúžení zornice. Ve většině případů dochází k omezení funkce komorového úhlu a tím i zvýšení NT [2, 3, 4].

1.4 Rizikové faktory vzniku glaukomu

V případě primárního glaukomu se jako hlavní příčina jeví dědičnost. Ze statistik pacientů vyplývá, že výskyt glaukomu je častější u pacientů vyššího věku, zejména nad 40 let. Dále je zmiňováno, že glaukomem častěji trpí černošská populace. Častěji jsou postiženy ženy a pacienti po srdečních záchvatech a mozkových příhodách [2, 3].

1.5 Metody vyšetření

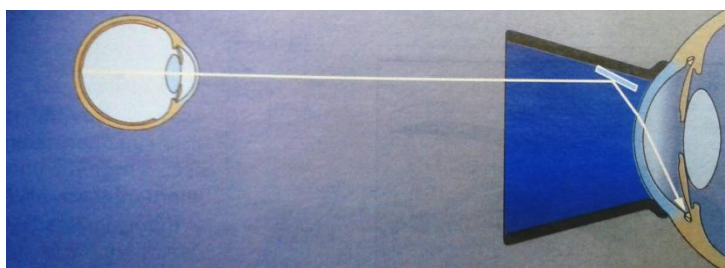
Kompletní vyšetření pro diagnózu glaukomu zahrnuje čtyři části: měření nitroočního tlaku tonometrem (kapitola 1.2.3), vyšetření zorného pole perimetrem, komorového úhlu gonioskopickou čočkou a vyšetření očního pozadí (zrakového nervu). Dále budou podrobněji popsány jednotlivá vyšetření [2].

1.5.1 Perimetrické vyšetření

Toto vyšetření pomůže lékaři určit rozsah pacientova zorného pole. Jde o vyšetření, kdy je pacientovi promítána značka postupně z periferie k centru podél daného poledníku. Proces je opakován a při něm je měněn jas a velikost značky, to proto, aby byly zmapovány oblasti s různou citlivostí na světlo [2,3,4].

1.5.2 Gonioskopie

Dále je třeba vyšetřit komorový úhel, vyšetření se nazývá gonioskopie a je prováděna pomocí goniočocky. Komorový úhel je pak možno vyšetřit díky systému zrcátek uvnitř goniočocky. Tak je zjištěno, jestli je úhel volně prostupný. Na „obrázku 4“ je vyšetření pomocí goniočocky [2].



Obr. 4: Názorné zobrazení prováděného gonioskopického vyšetření.[2]

1.5.3 Výšetření zrakového terče

Vyšetření očního pozadí, tzv. vyšetření terče zrakového nervu, se řadí mezi nejdůležitější z výše uvedených vyšetření pro diagnózu glaukomu. Nejprve je určena velikost terče zrakového nervu. Velikost je úměrná míře poškození zrakového nervu a dle ní lze v budoucnu očekávat ztrátu nervových vláken, která vede ke snížení zraku. Pokud je během vyšetření odhaleno krvácení v místě zrakového terče, lze předpokládat jeho další poškození. Na „obrázku 5“ jsou zobrazeny snímky zrakového terče [2, 3].



Obr. 5: Vlevo normální terč zrakového nervu, vpravo je terč zrakového nervu u glaukomového poškození[2]

Diagnóza glaukomu je velmi individuální záležitostí. Zde neplatí, že pro určitou diagnózu bude aplikován jeden způsob léčby. To vyplývá i z lékařských záznamů, kde je zmíněno, že u glaukomu s otevřeným úhlem se můžeme setkat s třemi příčinami ovlivňující zhoršené vidění. Za prvé nejběžněji se vyskytující glaukomové poškození doprovázené zvýšeným NT, za druhé glaukomové poškození s NT nepřesahující prahovou hodnotu a za třetí bez zjevného poškození zrakového nervu, ale se ZNT [2, 3].

1.6 Léčba

Hlavní prioritou u každé diagnózy by mělo být zabránění dalšího poškození, zejména pak terče zrakového nervu, které způsobuje zhoršené vidění. Při volbě správného postupu léčby musí být brána v úvahu také pacientova předpokládaná délka života a jeho celkový zdravotní stav. Léčba by v ideálním případě neměla ovlivňovat pacienta v konání jeho aktivit, je však potřeba, aby byla dostatečně účinná. V současné době je výběr mezi léčbou konzervativní, laserovou nebo klasickou chirurgií. Dále budou jednotlivé možnosti léčby vysvětleny [2, 3].

1.6.1. Konzervativní léčba

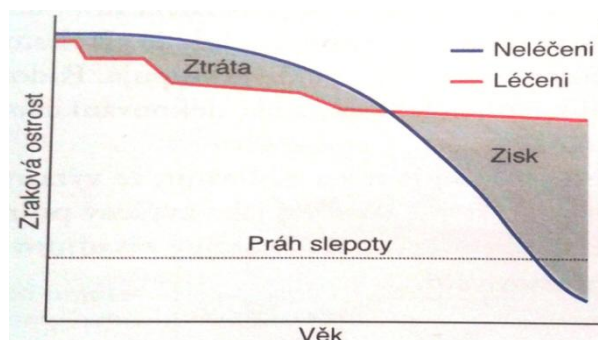
Léčbou konzervativní se rozumí léčba neoperativní. V případě glaukomu se jedná především o léčbu pomocí očních kapek (antiglaukomatik). Z hlediska mechanismu účinku se dělí na tři skupiny. Látky snižující tvorbu NT, látky zvyšující odtok NT a látky kombinující oba tyto účinky. Dále dle způsobu aplikace antiglauumatik na lokálně, nebo celkově podávané preparáty. Lokální aplikací přímo do spojivkového vaku jsou minimalizovány vedlejší účinky, nicméně část účinných látek může být vstřebána odvodnými slznými cestami. Tato aplikace v léčbě převažuje [2, 3].

1.6.2 Laserová léčba

K laserové léčbě je přistoupeno, pokud předchozí léčba pomocí medikamentů nemá uspokojivé výsledky. Její výhody je využíváno zejména při záchvatu glaukomu s uzavřeným úhlem (iridotomie). Pomocí ní je v duhovce vyříznut otvor pro obnovení cirkulace nitrooční tekutiny. V případě léčby glaukomu s otevřeným úhlem (trabekuloplastice) je pomocí goniočocky dle potřeby vytvořeno 50-100 bodů o velikosti 50 μm v místě komorového úhlu (trabekula). Laserová terapie má ve srovnání s klasickou chirurgií méně komplikací, a je pravidlem, že ji ve většině případů předchází [2, 3, 4, 6, 7].

1.6.3 Chirurgická léčba

V případě selhání všech výše zmíněných možností léčby je přistoupeno k chirurgickému zákroku. Zde se operativní zákrok z jednoho hlediska paradoxně setkává s otázkou, zda je pacient ochoten podstoupit operaci, která mu proti zažité logice naopak zrak ještě zhorší, viz „obrázek 6“. Toto tvrzení je pravdivé pouze z krátkodobého pohledu. Z dlouhodobé prognózy pacientovi přinese veliké výhody, jelikož by v případě nepodstoupení zákroku mohl až oslepnout [2, 4].



Obr. 6: Grafické znázornění změn zrakové ostrosti po podstoupení chirurgického zákroku pro snížení NT a neléčeného glaukomu z dlouhodobého hlediska [2]

Chirurgickým zákrokem se rozumí vytvoření umělé odtokové cesty pro nitrooční tekutinu a snížení NT (filtrující operace), ať už ze zadní oční komory (prostorem mezi duhovkou a čočkou), nebo přední oční komory (prostorem mezi duhovkou a rohovkou). Chirurgický zákrok můžeme rozdělit na penetrující (trabekulektomie, trabekulotomie) a nepenetrující (hluboká sklerektomie, viskokanalostomie, kanaloplastika) [2, 3, 4, 5, 6, 7].

Penetrující operace

Nejčastěji používaná penetrující operace je nazývána jako Trabekulektometrie. Je k ní přistupováno právě tehdy, pokud se nepodařilo pomocí jiných metod snížit NT. Jedná se o odstranění části tkáně mezi sklérou a rohovkou, takto se operátor dostane do přední komory, kde následně chirurgicky odstraní periferní část duhovky. Tím je vytvořena odtoková cesta pro nitrooční tekutinu. Během operace jsou aplikována antifibrotika, která mají za úkol snížit nadměrnou fibroproliferaci. Takto je snížena možnost selhání filtrace [4,6].

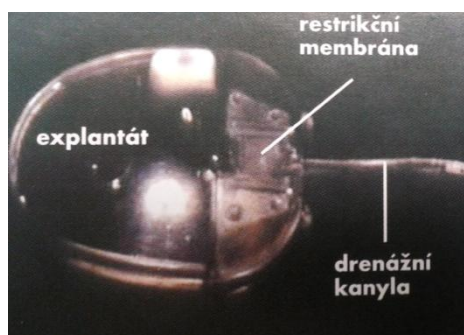
Nepenetrující operace

Oproti trabekulektometrii se z hlediska rizika jedná o méně rizikovou operaci, kde bylo riziko zanesení zánětu do oka, který by mohl skončit až slepotou. V případě této operace není odstraněna oční tkáň, pouze je vložen implantát. Tato metoda se nazývá kanaloplastika [2, 4, 6, 7].

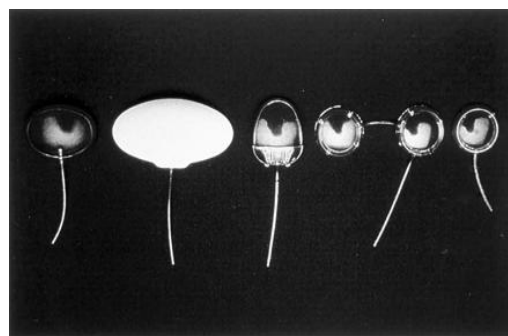
1.7 Drenážní Implantáty

V této kapitole budou popsány některé dnes používané drenážní implantáty, kterým bude věnována větší pozornost. Od prvních zkušeností s použitím silikonových drenážních implantátů roku 1969, je pozorováno jejich širší používání zejména při léčbě komplikovaných glaukomů. Hlavně v posledních letech jsou velmi žádané, jelikož se ukázaly jako vhodnější způsob léčby místo donedávna velmi oblíbené metody, kterou byla trabekulektomie [3, 4, 6, 7].

Většina dnes používaných drenážních implantátů, jak uvádí autor slovy: *”je tvořena silikonovou drenážní kanylou (DK) o vnějším průměru 0,6 mm a vnitřním průměrem 0,3 mm, která je zakotvena do těla DI, který se mezi sebou liší materiálem, velikostí explantátu a koncepcí, tj. zda se jedná o DI s vestavěným restriktorem průtoku nitrooční tekutiny, nebo bez něj”* Pro lepší pochopení jsou přidány obrázky. Na „obrázku 7“ je schéma DI s popisem částí a na obr. 8 jsou komerčně dostupné DI od různých výrobců [7].



Obr. 7: Schéma DI s popisem jednotlivých částí [7]



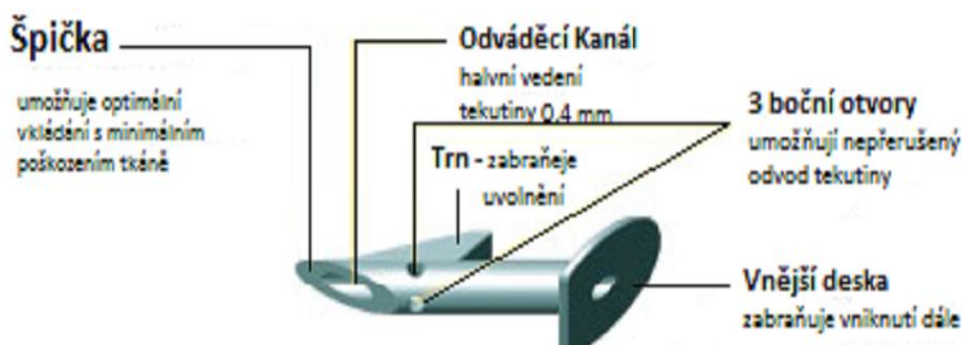
Obr. 8: zleva: Krupin, Baerveldt (350 mm²) Ahmed implantát, dvojité deska Molteno a jeden talíř Molteno [8]

Pro ujasnění bude vysvětleno několik pojmů, které souvisí s DI. Shunty – souhrnné označení pro pomůcky odvádějící nitrooční tekutinu z nitra oka. Explantát – vlastní tělo implantátu o určité rozloze. Filtrační polštář – označuje prostor v okolí explantátu, ohraničený vazivovým pouzdrem [7].

1.7.1 Ex-press mini-glaukoma shunt (kanaloplastika)

Jedná se o biokompatibilní zařízení, které je určeno pro aplikaci pod spojivku a jeho úkolem je snížení NT. Jde o 3 mm dlouhou mikrokanilu s vnějším průměrem přibližně 400 mikronů a dutinou pro odvod nitrooční kapaliny o průměru 50 mikronů, respektive 200 μm . Na „obrázku 9“ je zobrazen shunt s popisem jednotlivých částí a

jejich funkcí. Tento implantát byl poprvé použit roku 2002 v USA a po deseti letech byl aplikován 35 000 pacientů po celém světě. Vysoká úspěšnost 95% řadí Ex-press shunt mezi často používané, zejména i díky své snadné aplikaci. Implantát je vyroben z inertní nerezové oceli, jeho jediná nevýhoda je v možnosti ovlivnění výsledků při zkoumání stavu zrakového terče [9].



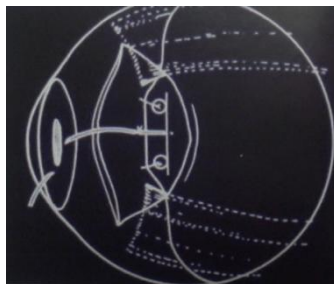
Obr. 9: Ex-press mini glaukoma shunt od společnosti Filtech enterprise s popisem jednotlivých částí [10]

1.7.2 Molteno Shunt

K aplikování molteno implantátu se lékaři přiklání při léčbě těžkých a složitých typech glaukomu. Jako například u starších pacientů se sníženou funkcí řasnatého tělesa nebo při kombinaci léčby šedého zákalu spolu s glaukomem [11].

Princip funkce tohoto DI je založen na dodávání nitrooční tekutiny zevnitř oka na horní povrch episklerární desky. Je toho dosaženo pomocí silikonové trubice. Episklerární deska je pevně přišita k bělmu a přikryta tkání a spojivkou. Funkce desky je vyvinout specializovaný fibrovaskulární vodný váček, který je zodpovědný za regulaci NT. V případě potřeby je možno použít i dvoudeskový implantát jak je zřejmé z „obrázku 8“, na „obrázku 10“ je znázorněno umístění implantátu [4, 7, 11].

Důležité parametry implantátu: hřebenový průměr talíře: 11,5 mm, externí průměr talíře 13 mm, maximální tloušťka talíře 1,65 mm, vnitřní/vnější průměr trubice 0,34/0,64 mm, délka trubice 25 mm [11].



Obr. 10: Umístění implantátu molteno

1.7.3 Implantát Baerveldt a Ahmed

Funguje na stejném principu jako Molteno shunt (kapitola 1.7.2), proto zde už není třeba rozepisovat princip jeho funkce. Je ale třeba zdůraznit některé jeho odlišnosti oproti předchozímu typu. Jeho hlavní odlišnost, proti konkurenčním shuntům fungujícím na stejném principu, je ve velikosti episklerární desky. Plocha této desky je řazena mezi ty větší, jak je patrné z „obrázku 8“. Úspěšnost těchto implantátů je hodnocena dle studie, která probíhala na 276 pacientech. Pro Baerveldt shunt je uváděna úspěšnost chirurgického zákroku 68%, což je v porovnání s konkurenčním Ahmed (69%) srovnatelné. [12].

1.7.4 Hluboká sklerektomie s kolagením implantátem

Tato metoda je označována jako nejpodobnější té, která bude použita v případě aplikace drénu popisovaného v „kapitole 3“. Jedná se o alternativní metodu s nižším výskytem pooperačních komplikací. Procento úspěšnosti je uváděno okolo 70%. Tato metoda je s úspěšností používána zejména v léčbě primárního i sekundárního glaukomu s otevřeným úhlem. Při chirurgickém zákroku je nejprve vytvořen povrchový lalok a následně je odstraněna hluboká vrstva skléry a část Schlemmova kanálu, která v tomto případě brání vstřebávání nitrooční tekutiny. Vzniklý prostor slouží jako rezervoár pro komorovou vodu. Její odvádění je zajištěno vložením kolagenního implantátu o rozměrech: 1 x 1 x 2,5 mm. Následuje přišití povrchového laloku na původní místo pomocí povolitelných stehů. NT je ovlivněn silou dotažení těchto stehů [7].



Obr. 11: Schéma hluboké sklerektomie s kolagením implantátem [7]

Cílem všech operací snižujících NT je zvýšit odvod nitrooční kapaliny. Existuje mnoho technik, které zde nemohou být probrány všechny. Je třeba zmínit, že nelze říci, která z nich je lepší nebo horší. Každá je volena individuálně podle potřeb pacienta a také dle zkušeností a schopností chirurga. V současné době se dává přednost DI, které přináší výhodu v menších pooperačních komplikacích [2].

2 Buněčná adheze

Cílem je vytvoření nanovláknenného tubulárního útvaru, který je odolný vůči fibrotizaci a zároveň umožňuje požadovaný odvod nitrooční tekutiny. To se dnes jeví jako největší problém současně používaných implantátů. Nedostatek spočívá v tom, že po určitém čase vlivem fibrotizace dojde ke snížení účinnosti odvodu tekutiny kvůli porůstání buňkami. Toto je první požadavek na přípravu vhodného útvaru. Nalézt vhodný materiál, který by těmito nedostatky netrpěl. Další požadavek je kladen na správný transport kapaliny, ale o tom až v následující „kapitole 3“.

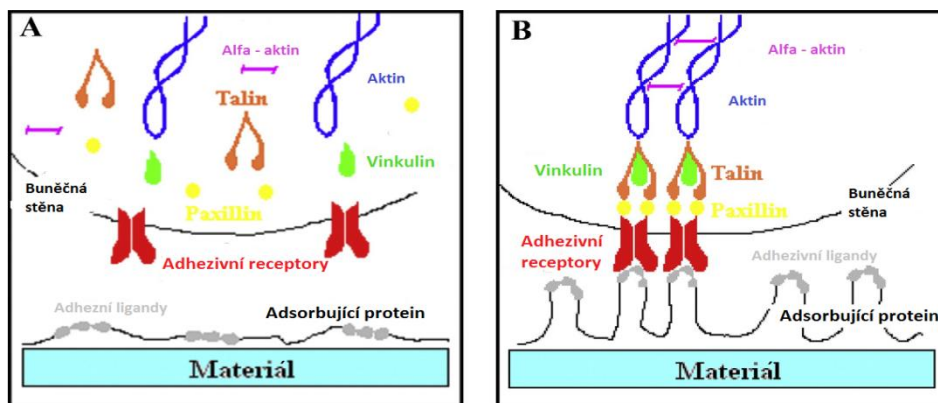
Hlavním požadavkem materiálů, na kterých je zkoumána buněčná adheze je nutnost biokompatibility materiálu (tzn. tolerance buněk k tomuto povrchu bez cytotoxického a mutagenního působení, dále je nutný předpoklad vhodných mechanických vlastností tohoto materiálu). Buněčnou adhezi můžeme rozdělit podle materiálů nepodporujících adhezi buněk (bioinertní). Tyto materiály se používají zejména na umělé kloubní chrupavky, nitrooční čočky a cévní náhrady. Dále na materiály bioaktivní (tzn. napodobující specifické a regulovatelné chování a tím podporující proliferaci buněk). Pro snadnější a správné pochopení pojmu buněčné adheze bude uveden „obrázek 12“ v následující kapitole [13].

Hodnocení adheze buněk může zahrnovat kvantitativní a kvalitativní analýzu, adhezivní kinetiku, stejně i tak sílu vazby na povrchu biomateriálů implantátu. Jednoduché metody k měření buněčné adheze, například počítáním procenta adherovaných buněk po uplynutí určitého času [13].

2.1 Schéma buněčné adheze

Z „obrázku 12“ je patrné, že pro správné osídlení povrchu materiálu buňkami je nutné, aby adhezivní ligandy spolu s adhezivními receptory vytvořily „vazbu“. To ovšem není jediná podmínka vhodné buněčné adheze. Dále je nutné, aby se receptory mohly seskupovat do kontaktních adhezních plaků a mohly mezi sebou komunikovat „obrázek 12 B“ [15].

Na „obrázku 12“ jsou schémata buněčné adheze na různých druzích povrchu. V případě „obrázku 12 A“ nejsou adhezní ligandy přístupné (nebo pouze v omezené míře) pro adhezivní receptory. Receptorům proto není umožněno seskupování do kontaktních adhezivních plaků. Na „obrázku 12 B“ jsou na mírně hydrofilním povrchu adhezivní ligandy adsorbujícího proteinu dobře dostupné adhezivním ligandům. Receptory se tak mohou seskupovat do adhezivních plaků a mohou komunikovat s aktiny cytoskeletu [15].



Obr. 12: A) Schéma adsorpce buněčné adheze, zprostředkované pomocí proteinu na hydrofobním povrchu materiálu. B) Mírně hydrofilní povrch, buněčné adheze zprostředkovány pomocí adhezivních receptorů (integrinů) [15]

Buněčná proliferace

Hodnocení buněčného růstu (proliferace) je jedním ze základních parametrů pro hodnocení biokompatibility materiálu. Buněčná proliferace na povrchu zkoumaného materiálu je výsledkem aktivního buněčného dělení, klidového stavu buňky a Apoptózy/ nebo Nekrózy. Oba výrazy znamenají buněčnou smrt. Apoptóza je plánovaná smrt. Nekróza je patologický proces smrti, který může ovlivňovat ostatní buňky. Pro posouzení buněčné biologické aktivity a vlastností materiálů je třeba zkoumané parametry, jako rychlost proliferace, životaschopnost buněk nebo buněčnou smrt, brát jako jednotlivé. Například pro kvantitativní určení buněčného růstu jsou třeba počítat pouze životaschopné buňky spojeny s povrchem materiálu. Testy se obvykle provádějí několikrát po sobě s odstupem dnů. Většina těchto testů je založena na použití fluorescenčního barviva, které pomůže rozlišit požadované části buněk [13].

Přežití buněk x Apoptóza

Apoptóza je programovaný proces buněčné smrti (PBS), která se běžně vyskytuje u mnohobuněčných organismů v průběhu vývoje. Apoptóza je často pozorována na povrchu implantátů, což může být způsobeno specifickými signály z jiných buněk. Zvláštním typem smrti je tzv. anolís. Jde o formu programovatelné buněčné smrti, která je indukována závisle na ukotvení buňky. Jedná se o odpojení buňky od okolní extracelulární hmoty (ECM), jelikož pouze nepřetržitá komunikace mezi buňkami a ECM poskytuje možnost růstu a přežití. Apoptóza probíhá v několika krocích, počínaje ztrátou buněčné membrány, buněčným smrštěním, zvýšením propustnosti mitochondriální membrány, což umožní únik apoptotických látek do cytoplazmy. To způsobí jadernou roztržistěnost, kondenzaci chromatinu a nakonec fragmentaci DNA [13].

2.2 Smáčivost povrchu

Většina lidí má pojem hydrofobicitu a hydrofilicitu zakořeněné jako smáčivost a nesmáčivost povrchu vodou. Toto je pravda, ale v našem případě je třeba pojednat ještě o přilnavosti buněk. Hydrofobicitou (nesmáčivostí) materiálu se rozumí neochota molekul nebo jejich částí interagovat se zkoumanou kapalinou. To se projevuje velkým kontaktním úhlem. V opačném případě (hydrofility, smáčivosti) je interakce dobrá a tento úhel je malý [14].

V případě adheze buněk je situace podobná, jen v některých případech se vyskytnou odlišnosti. Pokud jsou buňky aplikovány na velmi hydrofobní povrch, proteinům se nepodaří vytvořit dostatečně pevné ukotvení pro buňky. Další případ nemožnosti osídlení povrchu buňkami nastane u extrémně deformovatelného materiálu. Proteiny sice vytvoří dostatečně pevné ukotvení, ale materiál se pod vlivem trakčních sil, vyvolaných ulpívajícími buňkami, zhroutí [15].

Vysoce hydrofilní povrchy zabraňují absorpci proteinů nebo jsou tyto molekuly vázány pouze slabě. Na vysoce hydrofobních materiálech se tyto proteiny absorbují v pevných a denaturovaných formách, které brání adhezi buněk. Smáčivost povrchu materiálu, a to zejména u syntetických polymerů, může být významně regulována fyzikálním ošetřením povrchu, např. ozařováním ionty, plazmou nebo UV zářením. Ozářením aktivovaný povrch materiálu může být funkcionalizovaný různými biomolekulami a nanočásticemi, což dále zvyšuje jeho atraktivitu pro buňky a má vliv i na regulaci buněčných funkcí [15].

Požadavky na umělé nosiče

Umělé nosiče buněk by měly působit jako analogie přírodní extracelulární matrice (ECM). To znamená, že by měli regulovat rozsah a sílu buněčné adheze prostřednictvím vazeb mezi jednotlivými receptory buněčné adheze (např. integriny) a aktivní částí molekul ECM. Rozsah a síla buněčné adheze pak hraje rozhodující roli v aktivitě buněčné proliferace, přežití a následné regulaci buněk [15].

Povrch materiálu

Jak bylo zmíněno v úvodu kapitoly 2, pro výrobu drénu je důležitý výběr vhodného materiálu. Jenže to z jiného hlediska nemusí mít až tak zásadní vliv na porůstání umělého materiálu buňkami. Dle některých autorů je možné ovlivnit možnost, respektive nemožnost osídlení povrchu materiálu buňkami jen změnou povrchových vlastností a to bez ohledu na druh použitého materiálu. [14].

2.3 Transport kapalin

Mimo požadavku nemožnosti osídlení povrchu drénu buňkami, je další důraz kladen na vhodný transport kapaliny. V tomto případě nitrooční tekutiny. Dále budeme uvažovat za ideální hodnoty právě ty, které jsou z lékařského pohledu považovány za „normální,“ vyskytující se u zdravého jedince bez glaukomového poškození, respektive bez jeho rizikových faktorů. To znamená, že by zkoumaný materiál odváděl nitrooční tekutinu právě v takovém množství (jednotky ml/h), v jakém se tvoří, a navíc by udržoval nitrooční tlak na hodnotě cca 15 mm Hg.

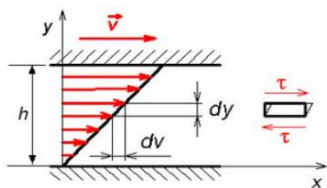
Z tohoto důvodu je potřeba nalézt vhodný systém pro popis proudění nitrooční tekutiny skrze zkoumaný objekt. Dále budou uvedeny vhodné fyzikální popisy pro možnost zkoumání transportu kapaliny. Nejprve je třeba zdůraznit, že veškeré fyzikální modely berou v úvahu pouze laminární proudění (tj. takové proudění, kdy jsou jednotlivé proudnice rovnoběžné a nemísí se). [17]

2.3.1 Viskozita a laminární proudění (Newtonská kapalina)

Viskozita, někdy označována jako vnitřní tření, je vlastnost reálných kapalin, která se projevuje třením. Představme si proudící kapalinu jako jednotlivé, k sobě přiléhající desky. Pohybují-li se sousední desky různými rychlostmi, pak na jejich rozhraní vzniká tečné (smykové) napětí, které působí proti jejich pohybu. Pomalejší vrstva je zrychlována a rychlejší je naopak zbrzděována. Toto napětí je způsobeno třením mezi jednotlivými molekulami kapaliny, tj. vlastní viskozita kapaliny. Derivace $\frac{dv}{dy}$ vyjadřuje rychlostní spád ve směru y a nazývá se gradientem rychlosti „obrázek 13“. Podle Newtona je tečné napětí úměrné rychlostnímu gradientu dle vztahu (3).

$$\tau = \eta \frac{dv}{dy} = \eta \frac{v}{h} \quad (3)$$

Kde η je konstanta úměrnosti nezávislá na rychlosti v a označuje se jako dynamická viskozita, h je vzdálenost dvou vrstev a τ je tečné (smykové) napětí. Tečné napětí tedy způsobuje úhlovou deformaci elementárního objemu tekutiny „obrázek 12“ [17].



Obr. 13: Smykové napětí při laminárním proudění [17]

2.3.2 Proudění viskózní tekutiny

Pro ideální tekutinu předpokládáme, že napětí σ_{ij} v ní má pouze obecný charakter tlaku.

$$\sigma_{ij} = -\delta_{ij}p \quad (4)$$

V případě reálných tekutin není výše uvedený předpoklad splněn. Při pohybu dvou sousedních vrstev v reálné tekutině různou rychlostí, vzniká mezi těmito vrstvami smykové napětí. V prvním zjednodušení předpokládáme, že velikost tohoto napětí je úměrně rovna rozdílu rychlostí mezi jednotlivými vrstvami, jak je vyjádřeno Newtonovým viskózním zákonem (ve vztahu 5). Potom výsledné napětí v pohybující se newtonské tekutině získáme, přidáme-li k tlakovému napětí (vztah 4) napětí σ'_{ij} vyvolané pohybem tekutiny [16].

$$\tau = \eta \frac{dv}{dx} \quad (5), \quad \sigma_{ij} = \delta_{ij}p + \sigma'_{ij} \quad (6)$$

Newtonův viskózní zákon, kde τ je tečné napětí, v je rychlost toku, x je souřadnice ve směru kolmém na směr proudění a η je dynamická viskozita. V rovnici (6) je označení σ_{ij} užito pro celkové napětí a ne pro jeho část jako ve vztahu (4), které značilo celkové napětí pro ideální tekutinu. Postupnou úpravou je dosaženo odvození Navier-Stokesovy rovnice, pomocí které je možno popsat proudění nestlačitelné newtonovské kapaliny [16].

$$\frac{\partial v_i}{\partial t} + v_j \frac{\partial v_i}{\partial y_j} = I_i - \frac{1}{\rho} \frac{\partial p}{\partial y_i} + \frac{\eta}{3\rho} \frac{\partial D_I}{\partial y_i} + \frac{\eta}{\rho} \frac{\partial^2 v_i}{\partial y_j \partial y_j} \quad (7)$$

Kde $\frac{\partial v_i}{\partial t}$ je parciální derivace rychlosti podle času, $\frac{\partial^2 v_i}{\partial y_j \partial y_j}$ je druhá parciální derivace rychlosti dle y , η je dynamická viskozita, ρ hustota, D_I první invariant tenzoru rychlosti deformace ($D_I = \frac{\partial v_1}{\partial y_1} + \frac{\partial v_2}{\partial y_2} + \frac{\partial v_3}{\partial y_3} = \text{div } \mathbf{v}$).

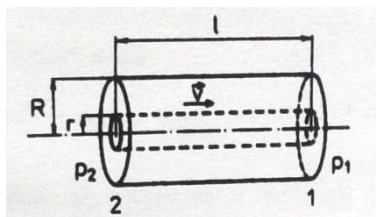
Při odvozování vztahu pro Navier-Stokesovu rovnici se vyskytuje poměr η/ρ viskozity η k hustotě ρ . Tento poměr bývá často uvažován při měření viskózních látek, nazývá se kinematická viskozita a označuje se symbolem γ (8) [16].

$$\gamma = \frac{\eta}{\rho} \quad (8)$$

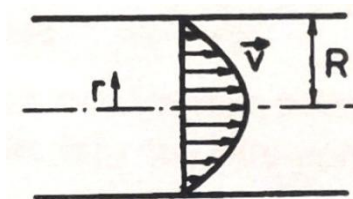
Ještě je třeba zmínit, že Naviero-Stokesovy rovnice (8) spolu s rovnicí kontinuity $\frac{d\rho}{dt} + \rho \frac{\partial v_i}{\partial y_i} = 0$ a s funkcí $\rho = \rho(p)$ tvoří úplný systém rovnic pro analytické řešení problému pohybu newtonských viskózních tekutin [16].

2.3.3 Poiseuillův zákon

V následující kapitole bude vysvětlen průtok viskózní kapaliny trubicí kruhového průřezu. Představme si válcovou trubicí, jíž proudí newtonská viskózní kapalina. Tato trubice má vnější průměr R a souosou proudovou trubicí o vnitřním průměru r „obrázek 14“. Nyní budeme vycházet z Newtonova viskózního zákona (3). Smysl tohoto zákona spočívá v tom, že smykové napětí na ploše kolmé ke směru, ve kterém se mění rychlost tekutiny, je úměrné změně rychlosti ve směru kolmém k uvažované ploše. Předpoklad spočívá v tom, že rychlost v v trubicí má směr osy, a její velikost v se mění pouze se vzdáleností od osy trubice „obrázek 15“ [16].



Obr. 14: Proudění viskózní kapaliny trubicí [16]



Obr. 15: Parabolické rozdělení rychlostí v řezu trubice protékané vis. kapalinou [16]

Prvním předpokladem bude, že $p_2 > p_1$. Při malých rychlostech proudění předpokládáme, že viskózní tekutina má u pevné stěny stejnou rychlost jako stěna. Pak lze tvrdit, že $v = 0$, $r = R$ [16].

$$v = \frac{p_2 - p_1}{4l\eta} (R^2 - r^2) \quad (9)$$

$$Q = \int_s v \, dA \quad (10)$$

Kde v je výpočet rychlosti viskózní tekutiny a Q je objem tekutiny, proteklý trubicí za jednotku času, v němž A značí průřez.

Objem V newtonské viskózní kapaliny o viskozitě η , proteklý za čas t trubicí o poloměru R a délky l , výškou trubice je dán rozdílem tlaku $(p_2 - p_1)$. Výpočet objemu je uveden ve vztahu 11.

$$V = \frac{\pi(p_2 - p_1)R^4 t}{8l\eta} \quad (11)$$

2.3.4 Darcyho zákon

Ke studiu transportu kapalin může být využit také Darcyho zákon (viz vztah 12). Jedná se o vztah, který definuje rychlost průtoku kapaliny pevným tělesem s póry, a který platí za podmínek rovnoběžných proudnic. Jedná se o lineární závislost mezi průtokem Q a piezometrickým (hydraulickým) gradientem k .

$$Q = \frac{\kappa A \Delta p}{\eta l} \quad (12) \rightarrow \text{kde lze zjednodušit } \frac{\kappa A}{\eta l} = k \rightarrow \text{potom } Q = k \cdot \Delta p \quad (13)$$

Kde (12) κ je skutečný koeficient filtrace, A je průřez, η dynamická viskozita, Δp rozdíl tlaků p_2 a p_1 , tlak hydrostatický ($\Delta p = \rho \cdot g \cdot h$ [Pa]). Ve vztahu (13) je Q objemový průtok [$\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$], k je koeficient filtrace. Právě výpočet koeficientu k pro nás bude zavádějící [16].

Darcyho zákon:

$$Q = k \cdot \Delta p \quad (11) \quad \text{kde } \Delta p = \Delta p_b + \Delta p_v$$

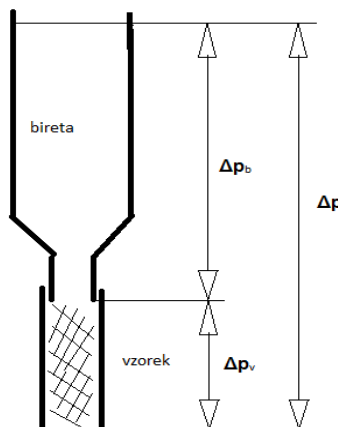
$$\Delta p = \rho \cdot g \cdot h$$

- 1) Určení k_b byrety: tekutina se nechá volně proudit pouze skrz byretu

$$k_b = \frac{Q_b}{\Delta p_b} \left[-; \frac{\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}}{\text{Pa}} \right] \rightarrow Q_b = k_b \cdot \Delta p \quad (14)$$

$$\Delta p = \Delta p_b + \Delta p_v$$

$$\Delta p = \frac{Q}{k_b} + \frac{Q}{k_v} \quad (15)$$



Obr. 16: Návrh praktického pokusu k získání k_v

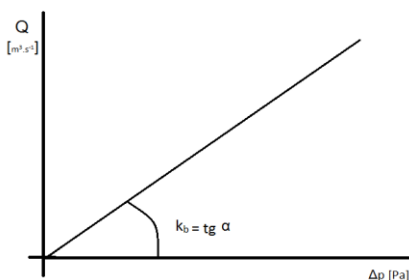
Získání piezometrického gradientu k_v zkoumaného vzorku (drénu). Vycházíme ze vztahu (15).

$$\Delta p - \frac{Q}{k_b} = \frac{Q}{k_v} \quad (16)$$

$$k_v = \frac{Q}{\Delta p - \frac{Q}{k_b}} \quad (17)$$

$$k_v = \frac{k_b Q}{\Delta p k_b - Q} \quad (18)$$

Možnosti ovlivnění hodnoty k_v je správná volba průměru d vyrobeného tubulu spolu s vložením vhodného materiálu do vnitřního průměru tubulu (vytvoření příze ze vzájemně paralyzovaných vláken pomocí speciálního kolektoru). Samozřejmě i délka zkoumaného drénu bude hrát zásadní roli. Na „obrázku 17“ je znázorněna závislost průtoku Q na změně tlaku Δp [16].



Obr. 17: Závislost Q na Δp [16]

2.3.5 Vzlínavost kapaliny

Se vzlínavostí úzce souvisí pojem kapilarita. Toto tvrzení je ještě umocněno, pokud se bavíme o nanovláčkách. V případě nanovláčkovitého útvaru vzniknou mezi vlákny miniaturní prostory (póry). Právě tyto póry v případě kontaktu tohoto útvaru s kapalinou způsobí tzv. „nasákání“ kapaliny do struktury útvaru. Zjednodušeně si to lze vysvětlit na modelu kapiláry. Pokud ponoříme úzkou trubici malého vnitřního průměru (kapiláru) svisle do kapaliny, lze pozorovat zakřivení na povrchu kapaliny v kapiláře a její vzestup, (resp. snížení) proti hladině ostatní kapaliny. V praxi nastanou dva případy. Prvním z nich je kapilární elevace. Jedná se o smáčení stěny kapiláry kapalinou, tudíž výška hladiny v trubici bude výše, než hladina okolní. Ve druhém, opačném případě, nastane kapilární deprese, kdy stěny nebudou smáčeny a hladina bude níže než okolní hladina. Pokud se bude jednat o nanovláčkový útvar, nastane jediný rozdíl. Jestliže bude pozorováno „nasávání“ do struktury útvaru, tak se bude jednat o elevaci. V druhém případě útvar nebude smáčen (deprese).

V praxi lze vzlínavost měřit jako nasákavost materiálu. Stanoví se v % jako poměr hmotnosti kapaliny pohlcené zkoumaným vzorkem ke hmotnosti suchého vzorku. Výsledná hodnota nasákavosti N_v lze vyjádřit ze vztahu (19) [17, 18].

$$N_v = \frac{m_m - m_s}{m_s} \times 100 \quad (19)$$

kde m_m a m_s jsou hmotnosti kapalinou nasáklého, respektive suchého vzorku.

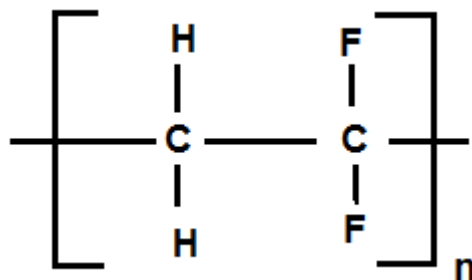
Dle výsledků různých studií mají nanovláknenné struktury ve srovnání s klasickými strukturami jedinečné vlastnosti, jako je vyšší povrch k objemu, menší póry a vyšší pórovitost. Pro mnoho aplikací je kapalná absorpce a smáčivost nanovláken rozhodující pro své výborné výsledky. Orientací směru vláken lze významně ovlivňovat zejména absorpci materiálu [19].

2.4 Materiály pro výrobu drénu

V následující kapitole budou popsány polymerní látky použité v experimentální části. Větší pozornost bude věnována zejména materiálům PVA (polyvinlalkohol) a PVDF (polyvinylidenfluorid), dále ještě PEO (poly – etylenoxid). U každého typu budou uvedeny základní vlastnosti a informace. Tyto materiály se v experimentální části ukázaly vhodné pro svou schopnost potlačit fibrotizaci, to bylo jedním z důležitých požadavků.

2.4.1 Polyvinylidenfluorid

Polyvinylidenfluorid, nebo polyvinyliden-difluorid (PVDF) je vysoce nereaktivní a čistý termoplastický fluorovaný polymer.



Obr. 18: Strukturní vzorec PVDF

Výroba

Poprvé se podařil vinylfluorid (C_2H_3F) připravit belgickému chemikovi Frédéricu Swartsovi roku 1901. Swarts použil pro přípravu reakci zinku s 1,1-difluor-2-brommethan. Právě vinylfluorid je monomerem pro námi žádaný polymer PVDF. Nyní se vinylfluorid vyrábí průmyslově polymerací vinyliden-difluoridu a to dvěma cestami, jak je uvedeno níže v rovnicích 1 a 2 [20, 21].

- 1) $HC\equiv CH + HF \rightarrow CH_2 = CHF$ kde C_2H_2 je ethan a HF fluorovodík
- 2) $CH_3-CHClF \rightarrow CH_2 = CHF + HCl$ lze také připravit z 1,1-chlorfluoroethanu

Vlastnosti a použití

PVDF vykazuje vynikající mechanickou pevnost a houževnatost, tuhost, vysokou dielektrickou pevnost, dále je odolný proti oděru. Dalšími přednostmi jsou bezpochyby jeho odolnost proti tečení, vysoká čistota, nízká hořlavost a chemická inertnost, která ho předurčuje k aplikaci v přímém kontaktu s chemikáliemi [24].

Výše uvedené vlastnosti předurčují PVDF zejména pro aplikace vstřikování. PVDF je dále vhodný materiál pro výrobu dílů používaných v chemickém a jaderném průmyslu, ve farmacii, výrobě potravin a nápojů, výrobě elektroinstalačních dílů a v automobilovém průmyslu. V medicíně se s úspěšností využívají kýlní síťky pro léčbu břišní nebo tříselné kýly. V tomto případě síťka tvoří tzv. „záplatu,“ oporu před opakující se kýlou. Zajímavou aplikací je i sendvičové využití PVDF/PMIA/PVD nanovlákených bateriových separátorů, vynikající velikou mechanickou pevností a tepelnou stabilitou. Tyto separátory jsou vyrobeny sekvenční technikou elektrospiningu. Dále se PVDF využívá v jednovrstvých i vícevrstvých konstrukcích ve farmaceutickém průmyslu [20, 21, 23].

Tabulka vlastností PVDF – Kynar 720

<i>Mechanické vlastnosti</i>	Kynar 720
Absorpce vody, 24 hodin	0,03%
Modul pružnosti 23 °C	18,85 Pa
<i>Teplotní vlastnosti</i>	
Bod tání	169°C
Max. provozní teplota	149°C
<i>Elektrické vlastnosti</i>	
Objemový měrný odpor	$1,5 \times 10^{-14} \Omega \cdot m$
Dielektrickou konstanta, 21°C, 60 Hz	8,15-10,46

Tabulka 1: Tabulka vlastností PVDF Kynar

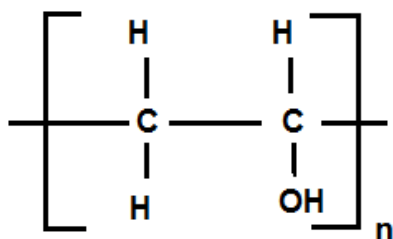
V současnosti se zřejmě největší pozornost soustředí na výrobu piezoelektrických filtračních membrán, vyrobených právě z PVDF polymeru. Jejich vlastností se využívá při odstranění filtračního nánosů vytvořeného během filtračního procesu. Výhoda současně používané vibrační metody spočívá v jednoduchosti zařízení, kdy není potřeba přivádět elektrické pulzy, jako tomu je u piezoelektrické membrány. Proto je snaha dosáhnout ještě lepších vlastností a díky tomu zavést tuto novou piezoelektrickou technologii do průmyslového čištění kapalin [24].

Toxicita

Tento polymer se nejeví vhodně jen díky pozitivním testům, které ukázali nemožnost buněk proliferovat na povrchu tohoto materiálu. I z hlediska testů toxicity se neprojevuje problém s jakýmkoliv negativními dopady. O tom určitě svědčí i používání tohoto polymeru v medicínských aplikacích. Zejména v aplikaci kýlních sítěk. PVDF může být použito i v opakovaném kontaktu s potravinami. Jeho povrch je vlastnostmi podobný sklu, je nepříznivý k množení mikroorganismů [22].

2.4.2 Polyvinylalkohol

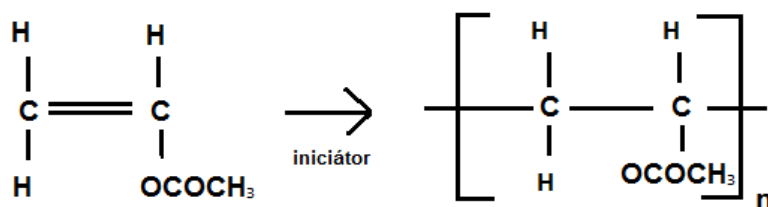
PVA (polyvinylalkohol) je syntetický hydrofilní polymer. Jeho objev se datuje roku 1912 a je připisán německému vědci Fritzi Klattlovi. Roku 1924 byl poprvé tento polymer připraven a následně vyšla i publikace popisující postup výroby [26].



Obr. 19: Strukturní vzorec polyvinylalkoholu

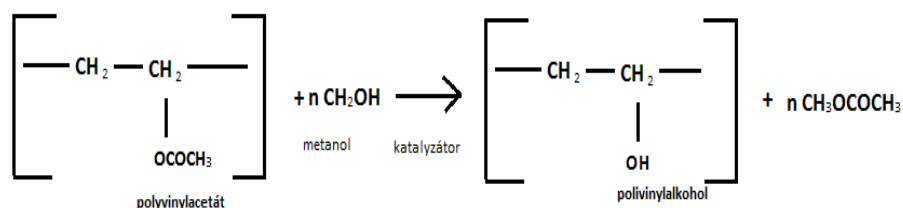
Příprava

PVA nejde připravit klasickou polymerací monomeru, jako tomu bývá u polymerů. Na vině je velmi nestabilní monomer vinylalkoholu, který přechází na svou stabilnější formu acetaldehydu. Acetaldehyd se proto stává výchozí formou pro výrobu PVA. Z něho se pomocí radikálové řetězové polymerace připraví polyvinylacetát (PVAc). Jako iniciátor se nejčastěji používá metanol. Znázorněno na „obrázku 17“ [26, 27].



Obr. 20: Získání polyvinylacetátu polymerací vinylacetátu

Následnou hydrolyzou polyvinylacetátu je získán polyvinylalkohol. Reakce probíhá obvykle rozpuštěním polyvinylacetátu v metanolu a jako katalyzátor je použit hydroxid sodný. Princip reakce je znázorněn na „obrázku 21“ [26, 27].



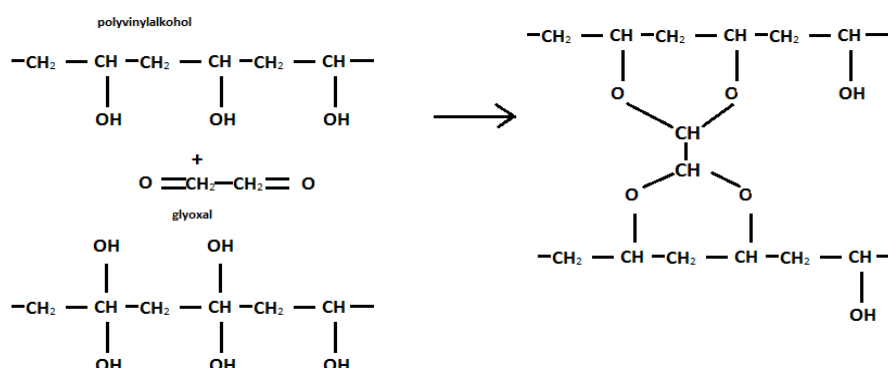
Obr. 21: Schéma výroby polyvinylalkoholu z polyvinylacetátu

Vlastnosti

PVA je bílý granulát nebo prášek krystalické struktury, který je dobře rozpustný ve vodě. Z hlediska toxicity nevykazuje žádné nežádoucí účinky. Dá se tvrdit, že je fyziologicky inertní. Vlastnosti polymeru jsou ovlivněny zejména stupněm hydrolyzy, střední molární hmotností. Tyto vlastnosti mají vliv na teplotu rozpouštění, pružnost polymeru a adhezi k hydrofobním povrchům. Důležitou vlastností je i stupeň hydrolyzy, například plně hydrolyzovaný PVA je rozpustný až při teplotě kolem sta stupňů celsia. [20, 25, 26].

Sít'ování

Sít'ování polymerů může být vysvětleno jako vzájemné spojování polymerních řetězců chemickými vazbami za vzniku prostorové sítě. V případě polyvinalkoholu je sít'ování umožněno pomocí sloučenin, které reagují s hydroxylovými skupinami. Mezi sít'ovací činidla patří mimo jiné glyoxal a kyselina fosforečná. Na „obrázku 22“ je znázorněno sít'ování PVA pomocí glyoxalu, sloužícího jako sít'ovací činidlo, které je přidáváno přímo do roztoku polymeru [20, 28, 29].

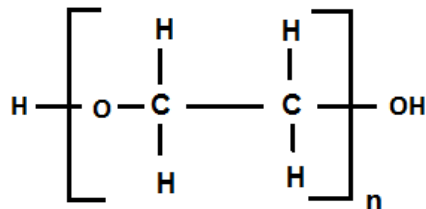


Obr. 22: Schematické znázornění sít'ování polivinylalkoholu glyoxalem

Pomocí výše znázorněného a popsaného je dosaženo zesít'ování PVA. Takto upravený polymer je odolný vůči rozpouštění ve vodě. To je v našem případě velmi zavádějící skutečnost, jelikož PVA bude v přímém kontaktu s nitrooční tekutinou. Je třeba

zdůraznit, že i přes zesíťování bude po ponoření do vody docházet k bobtnání a částečné ztrátě pevnosti.

2.4.3 Polyethylenoxid



Obr. 23: Strukturní vzorec polyetylen oxidu

Polyethylenglykol (PEG), známý také jako polyethylenoxid (PEO) nebo polyoxyetylen (POE), je komerčně nejvýznamnějším polyetherem. PEG, PEO nebo POE jsou oligomery nebo polymery ethylenoxidu. Všechny tři názvy jsou chemicky synonymní, ale historicky se jako PEG označují oligomery a polymery s molární hmotností do 20 000 g/mol, jako PEO polymery s molární hmotností nad 20 000 g/mol a jako POE polymery libovolné molární hmotnosti. PEG a PEO jsou kapaliny nebo nízkotající tuhé látky v závislosti na molární hmotnosti. PEG se připravují polymerizací ethylenoxidu a jsou komerčně dostupné v široké škále molárních hmotností PEG od 300 g/mol do 10 000 000 g/mol [20, 25, 30].

Použití

Z hlediska medicínského použití se PEO jeví jako neškodný i v případě orálního požití. Léky připravené právě z tohoto polymeru jsou používány pro léčbu střev. Dále se používá jako příměs k proteinovým lékům. Polyethylenglykol totiž způsobuje zpomalené vstřebávání léku. To přispívá k déle působícímu účinku léku a tím je umožněno prodloužit jeho intervaly v dávkování [31].

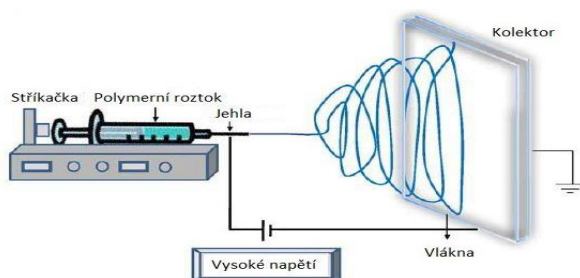
Toxicita

PEO se používá ke zlepšení farmakokinetických vlastností biologických materiálů. Ohledně tohoto byla vyjádřena obava z hlediska toxikologického účinku. V současné době se toxicita PEO jeví pouze při vysokých, parenterálních dávkách. Obvykle zasaženým orgánem jsou ledviny, protože zde dochází k odbourání nezměněného PEO.

2.5 Elektrostatické zvlákňování

Elektrostatické zvlákňování nebo electrospinning je jedna z nejpoužívanějších metod pro přípravu nanovláken. Touto technologií je možné vyrobit vhodné vlákenné a nanovláknenné materiály nejen pro tkáňové inženýrství, ve kterém mohou nahradit extracelulární matrix. Dále se používají pro výrobu funkčních náplastí, jejichž úkolem je urychlení léčby poraněného místa. Aplikace elektrostatického zvlákňování se uplatňuje i ve výrobě filtračních prostředků, akustice či separátorů pro baterie. Všeobecně mají nanovlákná veliký potenciál ve zdravotnictví, kdy při vhodné volbě materiálu dokážou nahradit požadované vlastnosti. O nanovlákních můžeme hovořit v případě, že jejich průměr je menší než 1 μm , liší se podle různých autorů [21, 33].

Na „obrázku 24“ je znázorněn princip jehlového elektrostatického zvlákňování. Na pumpě vytlačující dané množství roztoku polymeru je injekční stříkačka s jehlou, která je připojena na zdroj s vysokým napětím. Naproti jehle se nachází kolektor, který může být uzemněný nebo k němu může být připojeno opačné napětí. Proces zvlákňování je spuštěn ihned po překročení kritického napětí, kdy je kapka polymeru na injekční stříkačce, struně nebo válečku přeformována do tvaru Taylorova kužele, z jehož vrcholu je následně vytrysknut proud polymeru. Tento kužel se v některých případech hned po vytrysknutí polymeru rozpadne, jindy zůstane stálý nebo se jen změní. Mezi jehlou a kolektorem dochází k odpařování rozpouštědla z roztoku polymeru a souběžně s tímto dochází k dloužení vznikajících vláken. Vzniklá vlákna dopadají na kolektor, kde vytvoří vláknennou vrstvu. V případě speciálního kolektoru je pak ovlivněna orientace dopadajících vláken [33].



Obr. 24: Elektrostatické zvlákňování na plochý kolektor [29]

3 Experimentální část

V následující části budou popsány čtyři hlavní kapitoly, na které se soustředila pozornost této práce. V první kapitole byl výzkum soustředěn na výběr vhodného polymerního materiálu. Mimo požadavku na možnost zvláknit tento materiál vlivem vysokého napětí, byla pozornost věnována zejména proliferaci buněk na povrchu tohoto materiálu. Největším nedostatkem dnes používaných DI, se jeví postupná fibrotizace těchto drenů, což má za následek snižování funkce odvodu nitrooční tekutiny. Proto bylo navázáno na testy, které zkoumaly proliferaci buněk (3T3, myší fibroblasty) na různých polymerních materiálech. Z celkově pěti materiálů byly zvoleny dva (PVA, PVDF), které prokázaly špatnou proliferaci buněk na svém povrchu. V další části bude vybrán vhodný rozpouštědlový systém. Na tuto část bude navazovat výroba a optimalizace nanovláknenného drénu. Tato část bude doplněna o snímky z rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM) a budou zde diskutovány různé vlivy na tvorbu defektů a průměr vláken. V poslední části bude popsáno měření transportu kapalin ve vyrobených útvarech.

3.1 Výběr vhodného polymerního materiálu

Jak už bylo uvedeno v kap. 6, bylo navázáno na testy buněčné proliferace na různých polymerních materiálech. Konkrétně se jednalo o PA 6 (Polyamid 6), PAN (Polyakrylonitril), PUR (Polyuretan), PVA (Polyvinylalkohol), PVDF (Polyviniliden fluoride). K testům byly použity 3T3 (myší fibroblasty). Provedené testy (DAPI, LD, PI) byly prováděny po dobu sedmi dní. Kdy (1., 3. a 7. den) byly materiály podrobeny zkoumání pod fluorescenčním mikroskopem.

Test DAPI

Je založen na použití fluorescenčního barviva tropanové modři. Tohoto testu se využívá pro schopnost barviva procházet buněčnou membránou, čímž dojde k obarvení buněčného jádra, respektive k navázání barviva na DNA a RNA buňky. Následně můžeme vzorek zkoumat pod fluorescenčním mikroskopem. Pořízení snímku pomocí fluorescenčního barviva DAPI, které je buzeno pomocí UV záření, vyzařuje svou emisi ve viditelné (modré) oblasti. Proto je k detekci fotonů využíváno modrého filtru [14, 34, 35].

Test Live/Dead (LD)

Slouží pro určení životaschopnosti buněk v populaci pomocí dvoubarevného zvýraznění, takto je zjišťován poměr živých a mrtvých buněk. Všudypřítomná

vnitrobuněčná aktivita esterázy a neporušenost plazmatické membrány jsou odlišující charakteristiky živých buněk od mrtvých. LIVE/DEAD metoda rychle rozliší živé buňky od mrtvých. Hlavním rozdílem živých a mrtvých buněk je vnitrobuněčná aktivita „esterázy“, na kterou reaguje fluorescenční barvivo zeleným zabarvením. To znamená, že se živé buňky na snímcích jeví jako zelené. Naopak mrtvé buňky jsou zbarvené červeně, to je způsobeno indikací ztráty celistvosti plazmatické membrány [34].

Test Propidium jodid (PI)

Propidium jodid se řadí mezi interkalární fluorescenční barvivo, které se používá k zvýraznění nukleových kyselin (NK). Barvivo nedokáže prostoupit neporušenou membránou, což znamená, že není schopno projít skrze cytoplazmatickou membránu živých buněk a tak označit NK. V případě mrtvé buňky, která má membránu porušenou, barvivo prostoupí a tím dojde k zvýraznění NK. Fluorescenční excitační maximum PI se posouvá do červené oblasti. Tohoto se využívá především k označení mrtvých buněk, kde barviva uvnitř buňky emitují intenzivně červené záření při vlnové délce 617 nm [35, 36, 37].

Snímky z fluorescenčního mikroskopu

V této části jsou uvedeny snímky z fluorescenčního mikroskopu. K zjištění buněčné proliferace na povrchu zkoumaného materiálu bylo použito barvivo propidium jodid. Tohoto barviva se využívá k zobrazení NK v jádře buňky. Vždy pro jeden z pěti druhů polymerů bude uvedeno šest snímků. Testování probíhalo ve třech dnech (1., 3. a 7.) a z každého dne jsou uvedeny dva snímky. Jeden byl z povrchu materiálu z důvodu zjištění buněčné proliferace a druhý z jamky pro negativní kontrolu. Snímky jamky u barvení propidium jodidem jsou uvedeny v příloze spolu s dalšími testy DAPI a LD).

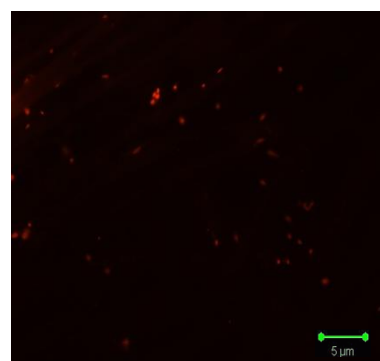
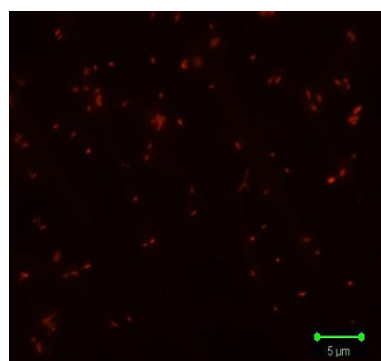
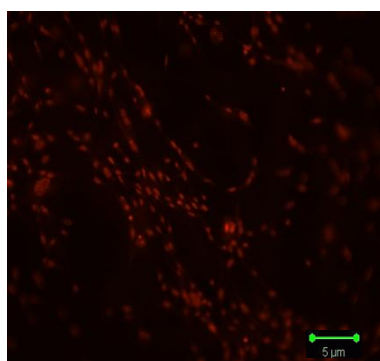
PI

1. den

3. den

7. den

PA 6 materiál

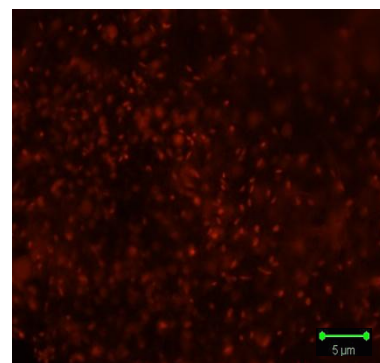
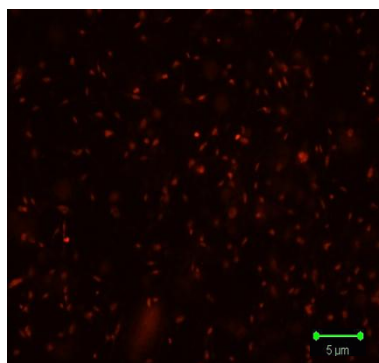
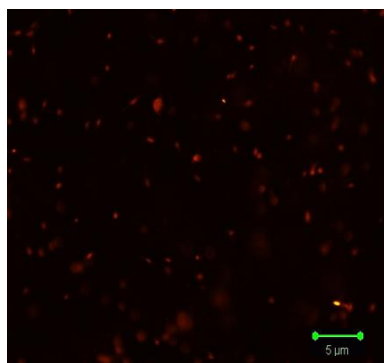


PI *1. den*

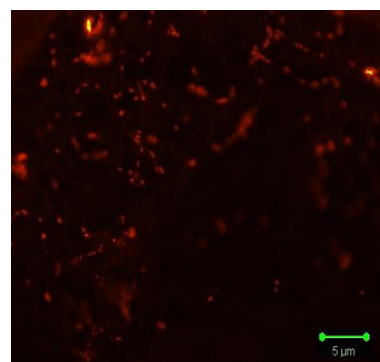
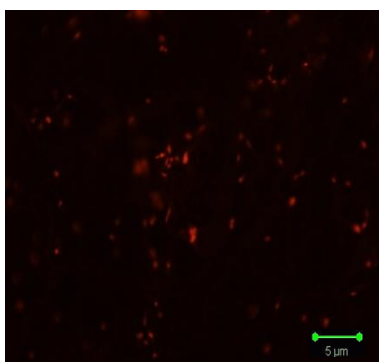
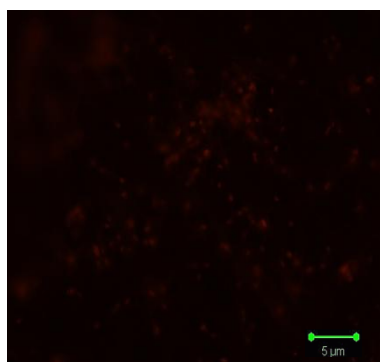
3. den

7.den

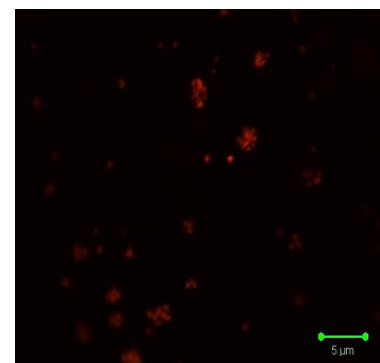
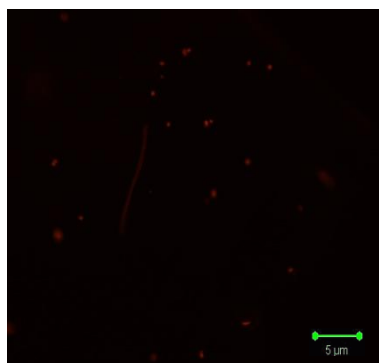
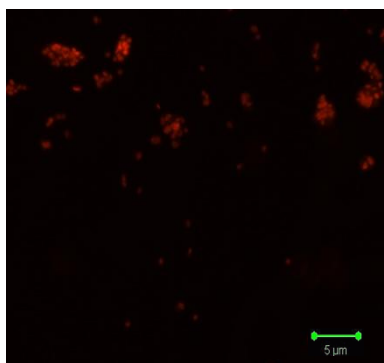
PAN materiál



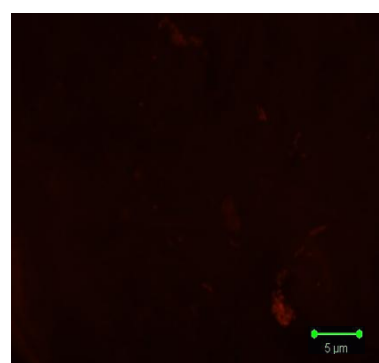
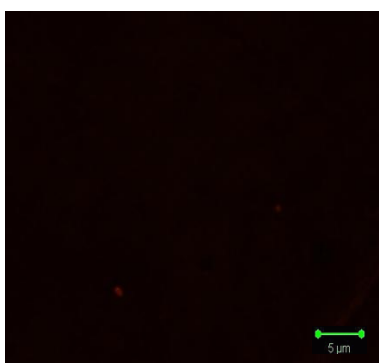
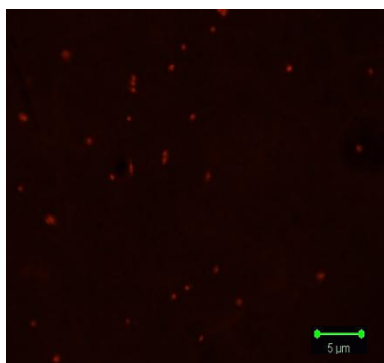
PUR materiál



PVA materiál



PVDF materiál



Z výše uvedených snímků získaných na fluorescenčním mikroskopu pomocí tří různých metod byly zvoleny za vhodné dva polymery, a to typ PVA a PVDF. Právě tyto materiály z celkově pěti typů vyšli nejlépe z hlediska požadavku kladeného na potlačení fibrotizace. Tím se předejde riziku snížení funkce implantátu a následného ZNT.

3.2 Použité polymerní materiály

Na základě buněčných testů byly vybrány vhodné polymerní materiály. Co se týče PVA od společnosti Sigma - Aldrich s označením Mowiol 18-88, Mw. 130000. U druhého polymeru byly zvoleny dva typy. Prvním byl Solef 11010 od společnosti Slovay, dalším pak Kynar 720 od společnosti Campus. Tento typ později prokázal lepší vlastnosti.

3.3 Výběr rozpouštědlového systému

Z důvodu snahy dosáhnout získání homogenního roztoku (směsi), čímž se rozumí systém dvou nebo více složek, ve kterém není možné pozorovat rozhraní mezi jednotlivými složkami, je dosaženo stejných vlastností v celém objemu. Roztok je složen vždy z rozpouštědla a rozpuštěné látky. Rozpouštědlem se rozumí látka, která je obvykle v nadbytku a v něm jsou ostatní látky rozpuštěné, nebo dispergované. Proto bylo důležité vybrat vhodné rozpouštědlo (pro PVA a PVDF), které by zajistilo řečené vlastnosti.

Pro PVA Mowiol 18-88 nebyl výběr nikterak složitý. Jak je uvedeno v kapitole 2.4.2, tento polymer je velmi dobře rozpustný ve vodě. Pouze bylo třeba pro elektrostatické zvlákňování vybrat nejvhodnější hmotnostní koncentrace a to z 8%, 10%, 12% a 14% PVA v H₂O. Jak už bylo výše řečeno, z důvodu použití drénu pro odvod nitrooční tekutiny a rozpustnosti PVA ve vodě, bylo nutné přidat síťovací činidla, glyoxal (od společnosti Sigma-Aldrich, jednalo se o Mw. 40% koncentraci v H₂O) a kyselinu fosforečnou H₃PO₄ (85%, $\rho = 1,7 \text{ g/cm}^3$).

V případě PVDF byly pro elektrostatické zvlákňování zvoleny dva typy polymerů a pro každý z nich i rozdílný rozpouštědlový systém. Prvním typem byl Solef 11010 Mw. 16,7% PVDF v DMAC (Dimethylacetamid). Dalším typem byl Kynar 720. Opět se jednalo o Mw. 16,7% PVDF v DMAC/Aceton v poměru (8/2).

V následující kapitole 3.4 budou popsány výhody použitých polymerních roztoků z hlediska elektrostatického zvlákňování. Budou zde diskutovány podmínky, které mají zásadní vliv na tvorbu vláken během zvlákňování, tyto popisy budou doplňovány o snímky ze SEM (rastrovací elektronový mikroskop).

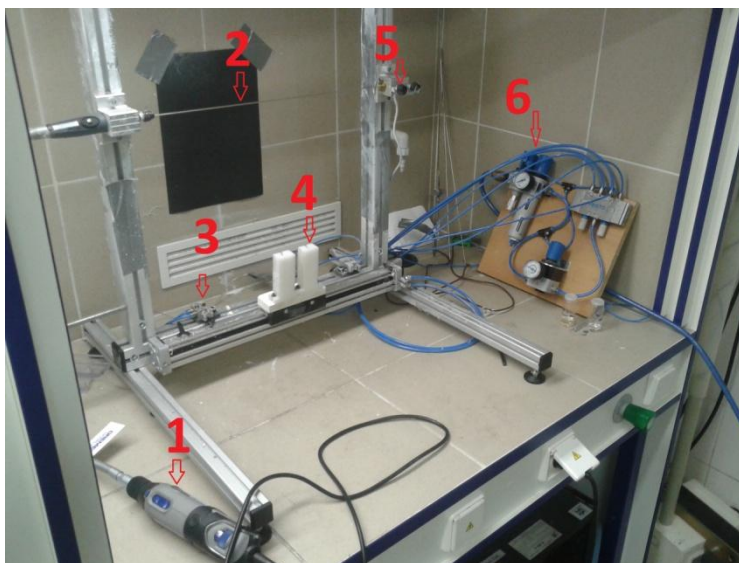
3.4 Výroba a vývoj nanovláknenného drénu.

V této kapitole bude popsána výroba samotného drénu. V jednotlivých částech budou diskutovány problémy, které se vyskytly při snaze vytvořit drén. Následně budou uvedeny i řešení, která byla důležitým krokem pro dosažení lepších vlastností. V některých případech pomohlo změnit podmínky zvlákňování, naopak v dalších bylo nutné vytvořit speciální přípravek.

Prvním polymerním materiálem, který jsme zvolily pro elektrostatické zvlákňování, bylo PVA. Jak z hlediska buněčných testů, které prokázaly negativní účinky na proliferaci buněk, tak i z hlediska toxicity nejsou předpokládány žádné imunitní reakce v místě aplikace drénu.

3.4.1 Rotující kolektor

Zařízením pro výrobu tubulárního útvaru, v našem případě drénu, se provádělo na zařízení, které bude dále označováno jako „rotující kolektor“. Na „obrázku 25“ je znázorněno celé zařízení s popisem jednotlivých částí. Princip tohoto rotujícího kolektoru je založen na dnes už dobře známém elektrostatickém zvlákňování, vysvětlení viz kap. 5.



obr. 25: Rotující kolektor s popisem jednotlivých částí. Popis částí 1-6 znázorněných na obrázku 25. Kde 1 – zařízení Dremel 4000 zajišťující otáčky kolektoru, 2 – kolektor o průměru 2 mm, 3 - doraz pro posuv, 4 - přípravek pro umístění jehly, 5 – uzemnění kolektoru, 6 – ovládání vzduchového posuvu.

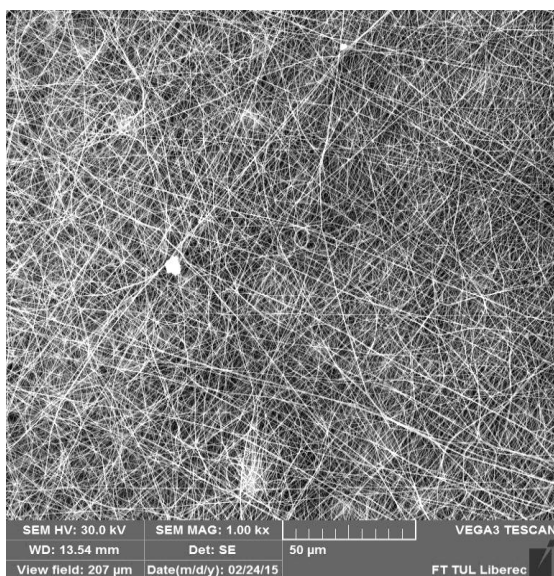
3.4.2 Podmínky při zvlákňování

V každé části budou uvedeny přehledně v tabulkách podmínky elektrostatického zvlákňování na rotující kolektor (jako kolektor byl použit nerezový drát o průměru 2 mm). Je ale potřeba zdůraznit, že postupnými experimenty bylo dosaženo získání lepších

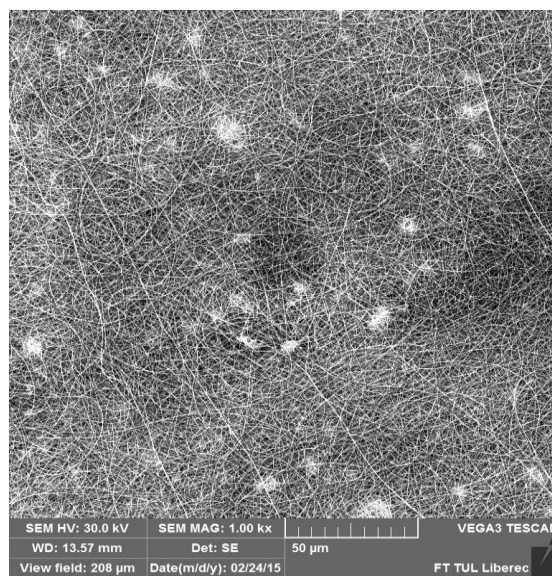
vlákenných drénů, zejména co se týče odstranění defektů a získání větší stejnoměrnosti průměrů vláken. Všechny hodnoty budou uvedeny v jednom sloupci, vždy k danému typu polymeru. Zásadní podmínky pak budou zvýrazněny tučně. Postupně bude diskutován vliv těchto podmínek, na tvorbu defektů a průměr vláken. Diskuze budou doplněny o SEM snímky.

3.4.3 Zvlákňování PVA

Zvlákňování PVA probíhalo ve dvou krocích při podmínkách, které jsou uvedeny v tabulce 2. V prvním kroku bylo přistoupeno ke zvlákňování 12% nesít'ovaného PVA. Právě tato hmotnostní koncentrace se jevila jako nejvhodnější z hlediska tvorby vláken. I přesto, že zvlákňování probíhalo dostatečně dlouhou dobu (60 minut), nepodařilo se vytvořit dostatečně silnou vrstvu, která by mohla být z povrchu kolektoru sundána. Podařilo se získat pouze malý vzorek, ze kterého byly pořízeny SEM snímky. Snímek nesít'ovaného PVA je na „obrázku 26“. V případě 8%, 10% a 14% koncentrace bylo vytvoření vlákenné vrstvy obtížnější nebo zcela nemožné. V druhém kroku bylo přistoupeno ke zvlákňování sít'ovaného PVA. Situace byla srovnatelná, pouze ze SEM snímků je patrné, že sít'ovací činidla měla negativní vliv na tvorbu defektů. Pro srovnání s „obrázkem 26“ je přiložen snímek sít'ovaného PVA na „obrázku 27“.



Obr. 26: SEM snímek nesít'ovaného PVA 12% ve zvětšení 1000x.



Obr. 27: SEM snímek sít'ovaného PVA ve zvětšení 1000x

Mimo tvorby defektů byly ještě hodnoceny průměry vláken z jednotlivých vzorků. Tato měření byla prováděna pomocí obrazové analýzy NIS – Elements a měření byla

prováděna rovněž na SEM snímcích. Porovnání průměrů jednotlivých vzorků je uvedeno v „tabulce 3“.

Podmínky zvlákňování

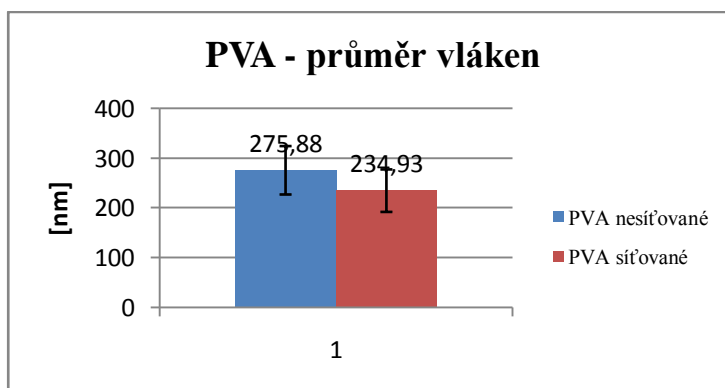
	PVA nesít.	PVA sít.	
<i>Teplota</i>	20 – 25	20 – 25	[°C]
<i>Vlhkost</i>	nemá vliv	nemá vliv	[%]
<i>Vzdálenost</i>	15 – 18	15 – 18	[cm]
<i>Napětí +</i>	15 – 18	15 – 18	[kV]
<i>Napětí -</i>	----	----	[kV]
<i>Zahřívání</i>	----	----	[°C]
<i>Čas</i>	45 – 60	45 – 60	[min]
<i>Dávkování</i>	1	1	[μl/h]

Tabulka 2: Podmínky elektrostatického zvlákňování síťovaného a nesíťovaného PVA.

n = 100 [nm]	Průměr vláken	St. odchylka	Minimum	Maximum
PVA nesíťované	275,88	48,64	171,55	434,54
PVA síťované	234,93	42,69	141,97	359,06

Tabulka 3: Průměr vláken [nm] polymeru PVA pro n = 100.

Z „tabulky 3“ je zřejmé, že nepatrně menšího průměru vláken bylo dosaženo v případě zvlákňování síťovaného PVA. Pro názornost je přiložený „graf 1“. Z hlediska průměru vláken se PVA jeví jako vhodný materiál. Nicméně vytvořená vrstva nanovláken byla velmi slabá a svými mechanickými vlastnostmi neumožnila sejmutí tubulárního drénu. Proto bylo přistoupeno ke zvlákňování PVDF, které v buněčných testech obstálo na srovnatelné úrovni.



Graf 1: Průměr vláken PVA, porovnání síťovaného a nesíťované roztoku

3.4.4 Zvlákňování PVDF

Od PVDF se dají očekávat lepší mechanické vlastnosti v porovnání s PVA. V případě zvlákňování tohoto polymeru PVDF (Solef 11010) v roztoku DMAC nastala podmínka vlhčení nad 60% RH (relativní vlhkost). Jelikož ke zvlákňování PVDF docházelo v zimním období, kdy se vlhkost pohybuje okolo 20% RH, nebylo možné dosáhnout požadované vlhkosti pomocí ultrazvukového membránového zvlhčovače. Proto bylo přistoupeno k vlhčení vzduchu jednoduchým ohříváním vody na vařiči. Tímto způsobem bylo možné dosáhnout 80% - 90% RH. V „tabulce 4“ jsou uvedeny podmínky zvlákňování typu PVDF Solef 11010.

Podmínky zvlákňování

PVDF

<i>Teplota</i>	20 – 25	[°C]
<i>Vlhkost</i>	↑ 60	[%]
<i>Vzdálenost</i>	15	[cm]
<i>Napětí +</i>	15 – 18	[kV]
<i>Napětí -</i>	3	[kV]
<i>Zahřívání</i>	----	[°C]
<i>Čas</i>	45 – 60	[min]
<i>Dávkování</i>	0,5 – 1	[μl/h]

Tabulka 4: Podmínky elektrostatického zvlákňování PVDF.

Vzniklá vrstva na rotujícím kolektoru byla v porovnání s PVA mnohokrát silnější a vykazovala i lepší mechanické vlastnosti, bohužel její křehkost neumožnila sundat ani krátký tubul a z tohoto důvodu nebylo možné udělat ani SEM snímky.

Zvlákňování PVDF (Solef) s PEO

Požadavkem bylo zlepšit mechanické vlastnosti vyrobeného vlákenného tubulu. Z tohoto důvodu byly do roztoku polymeru PVDF přidány 3 různé navážky PEO (Aldrich Mw. 900 000) a to: 0,1 g (0,87%), 0,2 g (1,64%) a 0,3 g (2,5%). Z rozdílných vlastností těchto polymerů se dá předpokládat zlepšení mechanických vlastností, ale také vznik porézní struktury vyrobeného tubulu, pokud bude podroben promytí vodou. Tím bude dosaženo vymytí PEO ze struktury PVDF vlákna a vznikne porézní struktura. To se jeví jako další možná výhoda při zkoumání transportu kapaliny skrze tubul. S přidáním PEO do roztoku PVDF s DMAC vznikne nutnost zahřívání této směsi i během zvlákňování a to na teplotu 60 °C. V „tabulce 5“ jsou uvedeny podmínky zvlákňování PVDF s PEO [17].

Podmínky zvlákňování

	PVDF+0,87% PEO	PVDF+1,64% PEO	PVDF+2,5% PEO	
Teplota	20 – 25	20 – 25	20 – 25	[°C]
Vlhkost	↑ 60	↑ 60	↑ 60	[%]
Vzdálenost	15	15	15	[cm]
Napětí +	15 – 18	15 – 18	15 – 18	[kV]
Napětí -	3	3	3	[kV]
Zahřívání	60	60	60	[°C]
Čas	45 – 60	45 – 60	45 – 60	[min]
Dávkování	0,5 – 1	0,5 – 1	0,5 – 1	[μl/h]

Tabulka 5: Podmínky elektrostatického zvlákňování PVDF s PEO

S přidáním PEO nastala nutnost použít zařízení pro ohřev polymeru během zvlákňování. Toto zařízení je zobrazeno na „obrázku 28“. S tím nastala nutnost použití speciálního přípravku, který je zobrazen na „obrázku 29“.

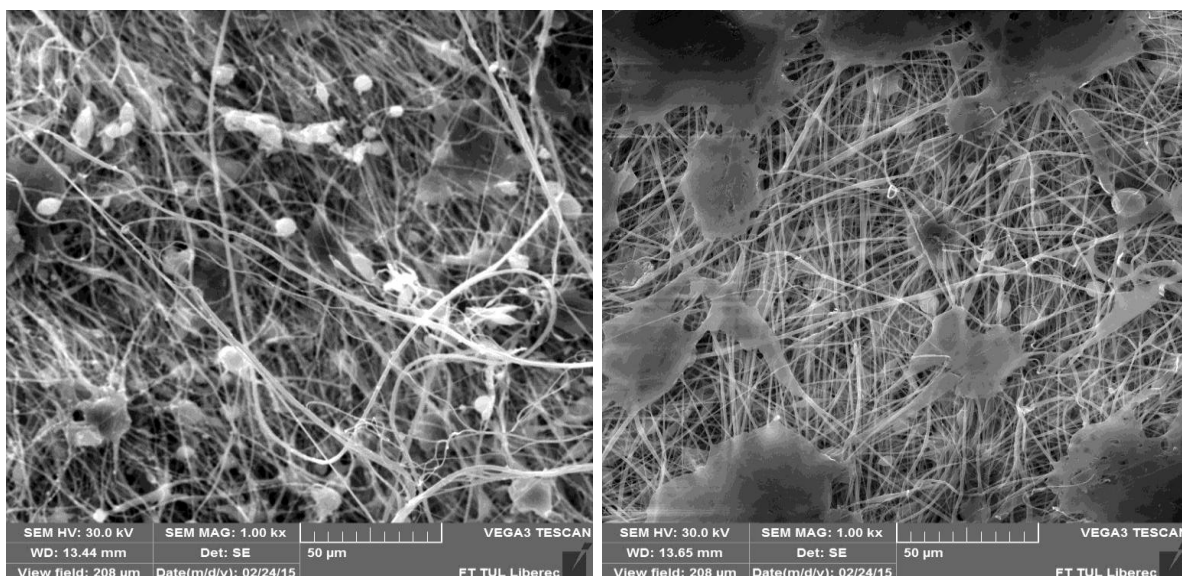
PVDF s PEO se ukázalo jako vhodná kombinace, která je jednak možná elektrostaticky zvláknit, ale zároveň lze získanou vláknennou tubulu sundat z kolektoru, aniž by došlo k jejímu porušení (mimo 0,1 g – 0,87%). Jelikož byly pozorovány značné rozdíly na vnější a vnitřní straně tubulu, budou dále rozebírány oba případy. Na „obrázcích 30 a 31“ jsou snímky PVDF s různou koncentrací PEO (0,2g – 1,64% a 0,3g – 2,5%). V případě nejmenší koncentrace PEO se nepodařilo získat neporušený drén, proto nebude dále uveden.



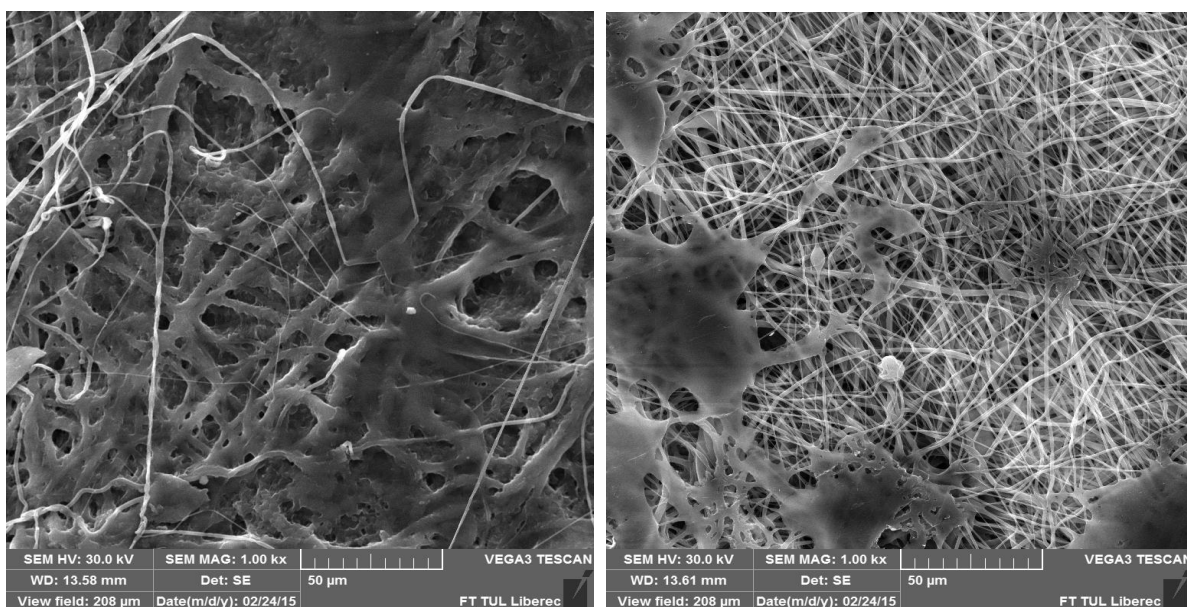
Obr. 28: Zařízení pro zahřívání polymeru přímo při zvlákňování. Zeleně je zobrazena nastavená teplota a červeně aktuální teplota roztoku.



Obr. 29: Přípravek umožňující současné využití vzduchového posuvu a zařízení pro zahřívání během zvlákňování.



Obr. 30: SEM snímky PVDF (Solef) s 1,64% PEO zvětšení 1000x. Vlevo je snímek vnější strany tubulu a vpravo vnitřní strany.

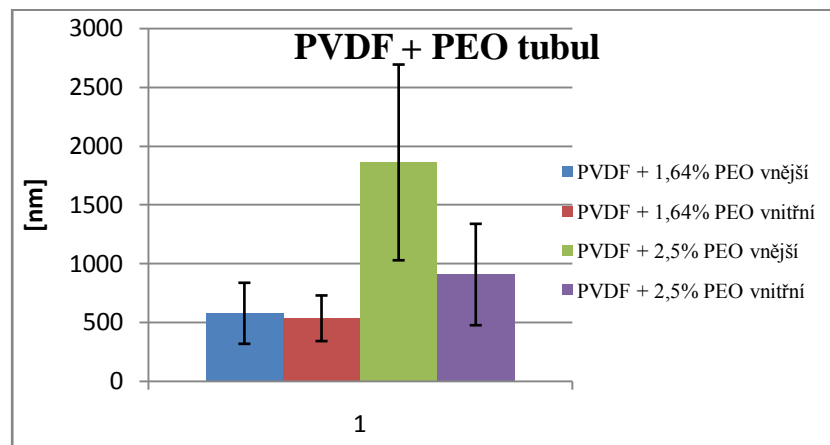


Obr. 31: SEM snímky PVDF (Solef) s 2,5% PEO zvětšení 1000x. Vlevo je snímek vnější strany tubulu a vpravo vnitřní strana.

Z „obrázků 30 a 31“ je vidět značné defekty ve struktuře tubulu. V „tabulce 6“ jsou uvedeny průměry vláken, které byly naměřeny na SEM snímcích. Při zvlákňování byl pozorován problém, ten se vyskytl krátce po přivedení vysokého napětí na jehlu. Přibližně po pěti sekundách došlo k nabytí polymerního roztoku a to způsobilo zkrat se zařízením na jeho ohřev. Řešením bylo použití oddělovacího transformátoru, který tento problém vyřešil.

n = 100	[nm]	Průměr vláken	St. odchylka	Minimum	Maximum
PVDF + 1,64% PEO vnější		577,32	259,41	138,01	1519,37
PVDF + 1,64% PEO vnitřní		535	194,79	208,71	1023,07
PVDF + 2,5% PEO vnější		1859,98	832,96	437,76	4264,67
PVDF + 2,5% PEO vnitřní		906,91	430,56	296,21	2695,81

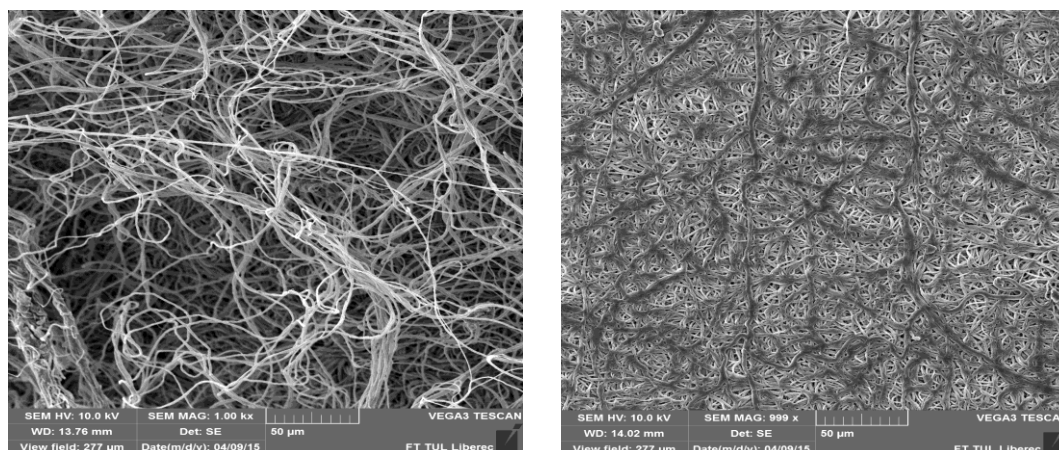
Tabulka 6: Průměr vláken [nm] pro $n = 100$. Polymer PVDF s PEO v různých koncentracích.



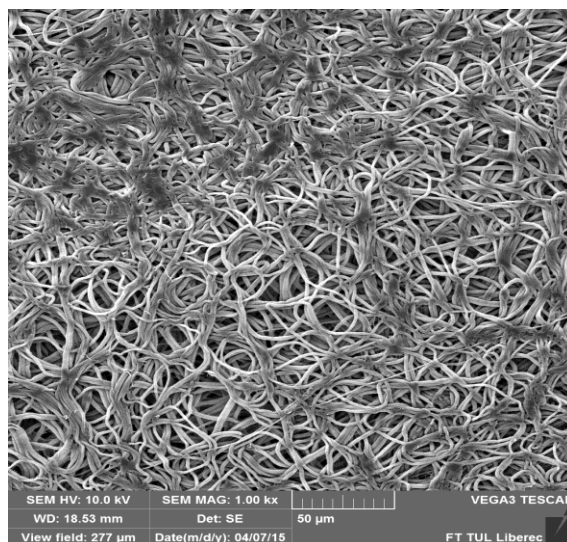
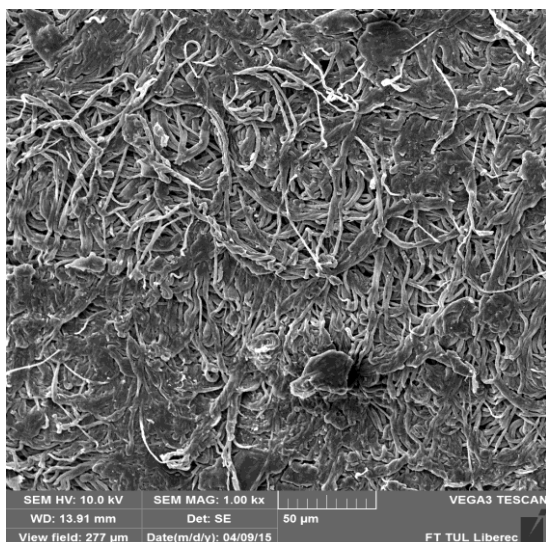
Graf 2: Průměr vláken PVDF s PEO, porovnání vnější a vnitřní strany tubulu.

Zvláknování PVDF (Kynar 720) s PEO

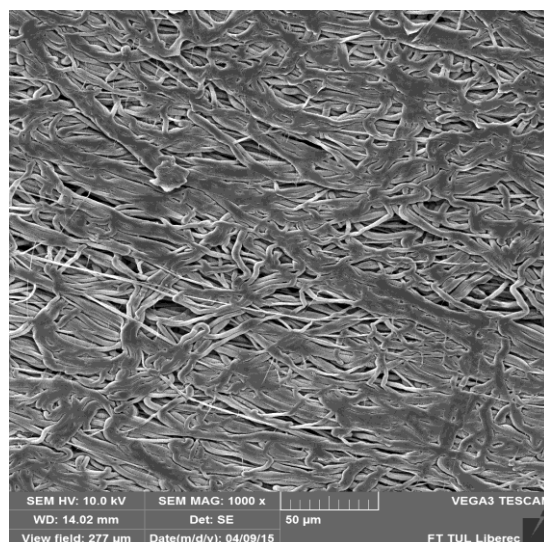
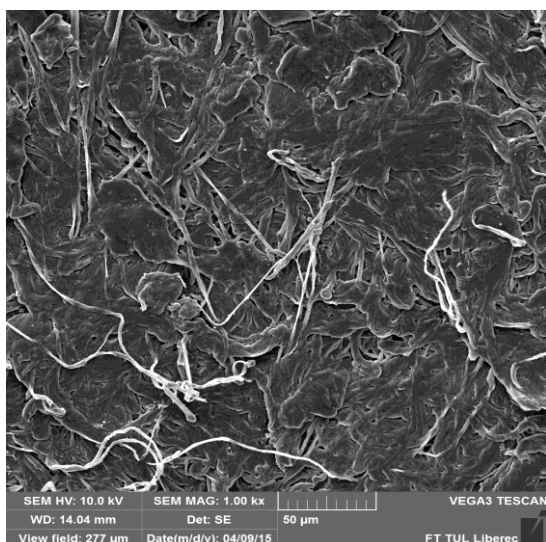
Z důvodů značných defektů a nemožnosti sundat vniklou tubulu čistého PVDF a PVDF s 1,64% PEO bylo přistoupeno k výběru jiného druhu PVDF a to KYNAR 720. V případě tohoto polymeru byl použit jiný rozpouštědlový systém, než v případě PVDF typu Solef. A to DMAC/Aceton (v poměru 8/2). Podmínky zvláknování byly shodné s typem Solef, viz „tabulka 4“ pro samotné PVDF a „tabulka 5“ pro PVDF s PEO. Změnou typu PVDF bylo dosaženo získání neporušeného tubulu i u směsi PVDF + 0,87% PEO. Dále na „obrázcích 32- 34“ budou uvedeny snímky vnější, respektive vnitřní strany tubulu.



Obr. 32: SEM snímky PVDF (Kynar) s 0,87% PEO zvětšení 1000x. Vlevo je snímek vnější strany tubulu a vpravo vnitřní strany.

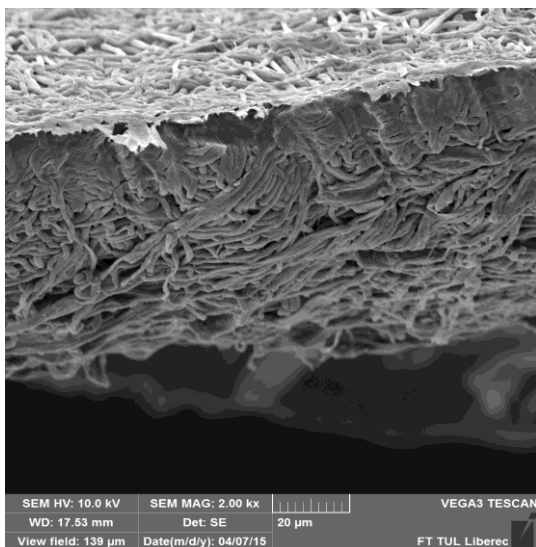


Obr. 33: SEM snímky PVDF (Kynar) s 1,64% PEO zvětšení 1000x. Vlevo je snímek vnější strany tubulu a vpravo vnitřní strany.

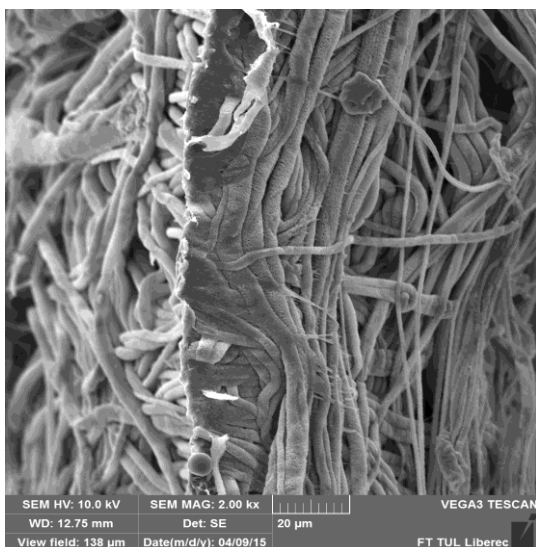


Obr. 34: SEM snímky PVDF (Kynar) s 2,5 % PEO zvětšení 1000x. obr. Vlevo je snímek vnější strany tubulu a vpravo vnitřní strany.

Z „obrázků 32, 33 a 34“ vlevo, na kterých jsou snímky z vnitřní strany tubulu je zřejmé, že nejlepší struktury bylo dosaženo při zvláknování PVDF s 0,87% PEO a se zvyšující se koncentrací PEO se struktura povrchu zhoršovala. V případě snímků vpravo, na kterých jsou zobrazeny vnitřní strany tubulu, bylo nejlepších výsledků dosaženo v případě příměsi s 1,64% PEO. Zbylé struktury byly srovnatelné. Řezy vláknými tubuly ukázaly přibližnou hustotu uspořádání vláken v celé jejich šíři. Řezy strukturou tubulů vyrobených z PVDF s příměsí 1,64 a 2,5% PEO jsou znázorněny na „obrázcích 34 a 35“.



Obr. 34: SEM snímek zvětšený 2000x. Řez tubulem PVDF s 1,64% PEO.

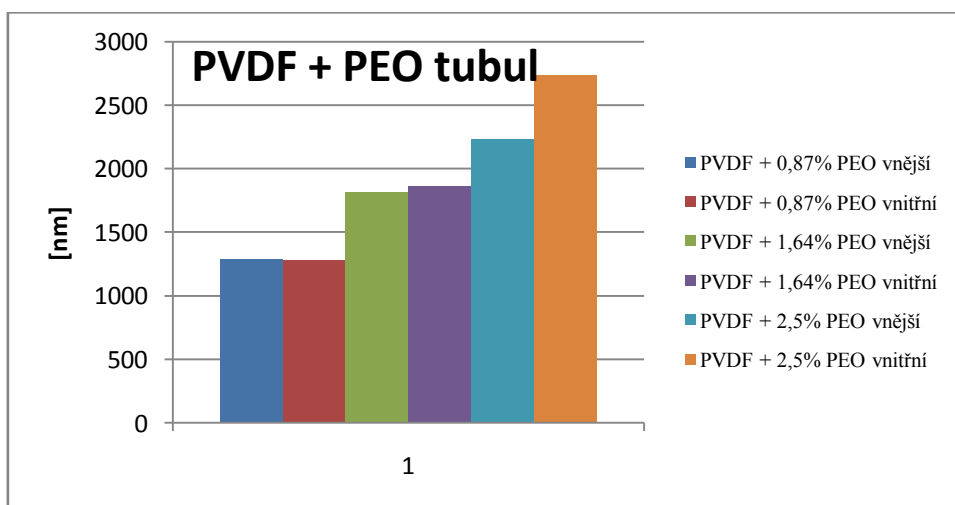


Obr. 35: SEM snímek zvětšený 2000x. Řez tubulem PVDF s 2,5% PEO.

V „tabulce 7“ jsou uvedeny průměry vláken pro získané tubuly. Jednalo se o PVDF s různými množstvími přidaného PEO.

n = 100 [nm]	Průměr vláken	St. odchylka	Minimum	Maximum
PVDF + 0,87% PEO vnější	1286,66	343,96	497,85	2293,59
PVDF + 0,87% PEO vnitřní	1280,56	241,05	812,88	2152,36
PVDF + 1,64% PEO vnější	1810,03	457,3	493,46	3171,15
PVDF + 1,64% PEO vnitřní	1863,13	354,01	868,9	2828,92
PVDF + 2,5% PEO vnější	2230,95	637,56	1065,31	4445,32
PVDF + 2,5% PEO vnitřní	2732,76	841,94	943,26	4470,51

Tabulka 7: Průměr vláken [nm] pro $n = 100$. Polymer PVDF s PEO v různých koncentracích.



Graf 3: Průměr vláken PVDF s PEO, porovnání vnější a vnitřní strany tubulu

Přestože průměry vláken vnitřních a vnějších stran tubulů byly srovnatelné viz „tabulka 7“, na SEM snímcích je patná rozdílů struktura jednotlivých stran. Na vině se ukázala příliš vysoká relativní vlhkost. Ta dosahovala hodnot mezi 80 – 90 % RH.

Vliv vlhkosti

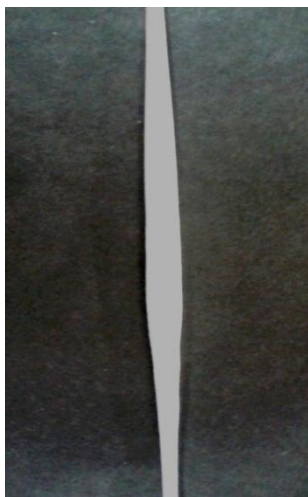
Z důvodů značně rozdílné struktury vnitřní a vnější strany tubulu, možno posoudit „z obrázků 32 – 34“, bylo snahou dosáhnout větší podobnosti jednotlivých stran. Proto se v této části zaměříme na popis vlivu vlhkosti, což se projevilo jako zcela zásadní podmínka. Nejmenších rozdílů ve strukturách jednotlivých stran bylo dosaženo při vlhkosti 60 – 65 % RH. Právě za této podmínky se podařilo prvně vytvořit a následně i neporušeně sundat drén vyrobený čistě z PVDF bez přidání jakéhokoli PEO. V „tabulce 9“ jsou uvedeny zvláknovací podmínky pro tuto a následující část (přídavný kolektor).

Podmínky zvláknování

	PVDF	PVDF+0,87%PEO	PVDF+1,64%PEO	PVDF+2,5%PEO	
<i>Teplota</i>	20 – 25	20 – 25	20 – 25	20 – 25	[°C]
<i>Vlhkost</i>	60 – 65	60 – 65	60 – 65	60 – 65	[%]
<i>Vzdálenost</i>	15	15	15	15	[cm]
<i>Napětí +</i>	15 – 18	15 – 18	15 – 18	15 – 18	[kV]
<i>Napětí -</i>	3	3	3	3	[kV]
<i>Zahřívání</i>	----	60	60	60	[°C]
<i>Čas</i>	45 – 60	45 – 60	45 – 60	45 – 60	[min]
<i>Dávkování</i>	0,5 – 1	0,5 – 1	0,5 – 1	0,5 – 1	[μl/h]

Tabulka 9: Podmínky elektrostatického zvláknování PVDF (kynar) a PVDF s PEO

Při změně vlhkosti na danou hodnotu 60 – 65 % se projevil problém, který při předchozím zvláknování nebyl tak zásadní a tudíž mu nebylo nutné věnovat pozornost. V případě elektrostatického zvláknování za použití vzduchového posuvu nebyla pozorována žádná tvorba vlákně vrstvy na rotujícím kolektoru a to ani po 30 minutách. V případě, že byl posuv zastaven, vlákně vrstva se začala tvořit. V mnohých případech ale ne přímo nad jehlou, ale o několik centimetrů vedle. V tomto případě ale docházelo k vytváření tubulu, který měl značně nesouměrnou tloušťku (šíři) vrstvy viz „obrázek 36“ V některých případech byla pozorována občasná tvorba vlákně „pavučiny“ mezi rámem držící rotující kolektor a stěnou digestoře viz „obrázek 37“. Tato pavučina byla následně „namotána“ na rotující kolektor, což mělo opět vliv na nesouměrnost tloušťky vrstvy. Bohužel v tomto případě nebylo možné na kolektor připojit záporné napětí. Důvodem bylo vodivé spojení kolektoru s rámem. Jediným řešením bylo přidat přídavný kolektor, který byl nevodivě spojený se zbytkem zvláknovacího zařízení. Více v následující kapitole.



Obr. 36: PVDF + 0,87% PEO, vznik nesouměrného tubulu vlivem vypnutého posuvu



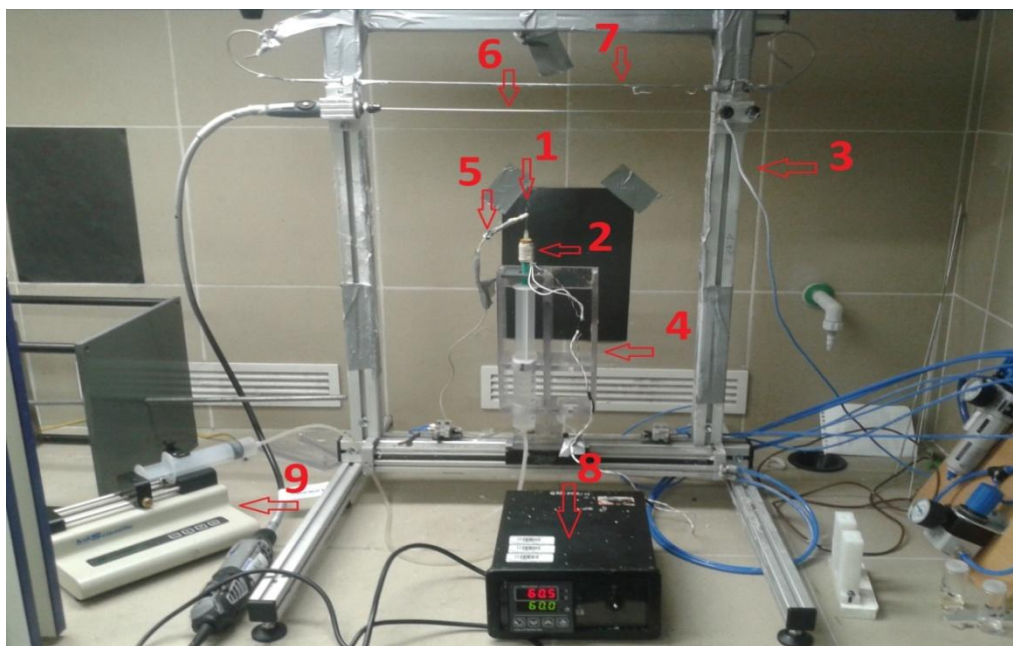
Obr. 37: Tvorba vlákenné pavučiny během elektrostatického zvlákňování mimo kolektor

Přídavný kolektor

Kvůli problémům řečeným v předchozí kapitole (vliv vlhkosti) bylo nutné použít přídavný kolektor, na který bylo připojeno záporné napětí. Jednalo se o „drát,“ který musel být nevodivě spojen se zvlákňovacím zařízením. To proto, aby nedocházelo k ovlivňování zvlákňování vlivem nabytí rámu. Tento přídavný kolektor musel být umístěn přímo nad ten rotující, jinak docházelo k pozorování stejného problému, vzniku vlákenné pavučiny mimo kolektor, jako je znázorněno v předchozí části na „obrázku 37“.

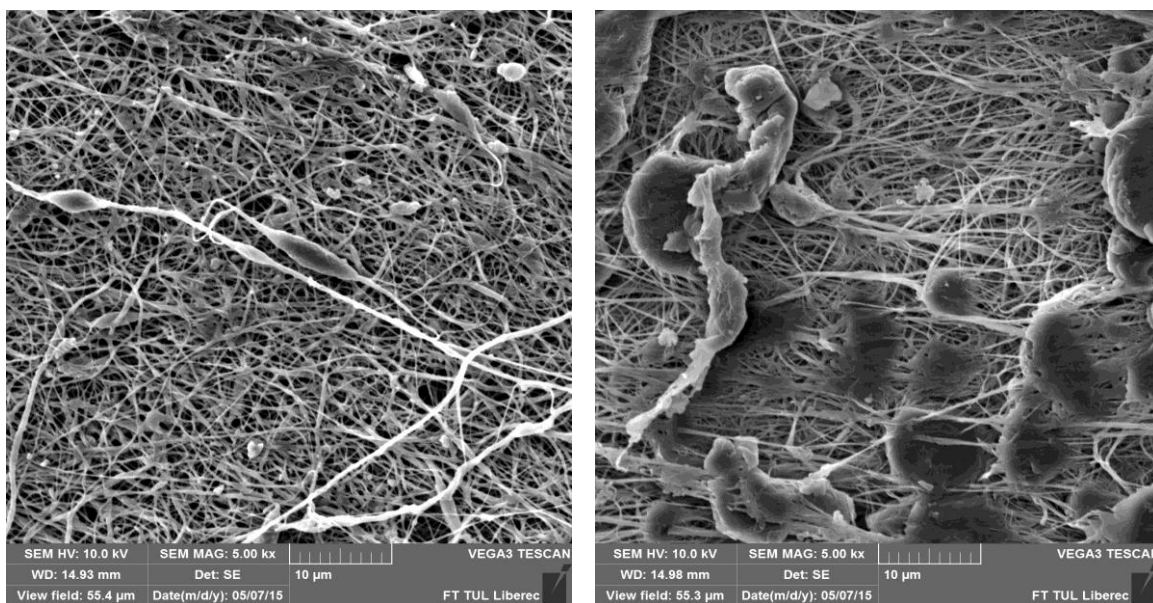
Přidáním pomocného kolektoru, na který bylo přivedeno záporné napětí o hodnotě -3 kV, bylo možné vytvořit relativně, což se týká tloušťky vrstvy, rovnoměrný tubul po celé délce rotujícího kolektoru. Finální podoba zvlákňovacího zařízení společně s přidaným kolektorem a popisem nejdůležitějších částí je zobrazena na „obrázku 38“.

Dále budou uvedeny a diskutovány snímky vlákenných tubulárních drénů, které se podařilo připravit na zde popisovaném zařízení. Jednalo se svými vlastnostmi o nejlepší tubuly připravené v této práci. To je také důvodem, proč právě na těchto útvarech byl následně studován transport kapalin (uvedeno v kapitole). Samozřejmě nebude chybět tabulka srovnávající jednotlivé průměry vláken, jak už na vnější, tak i vnitřní straně tubulárního drénu.

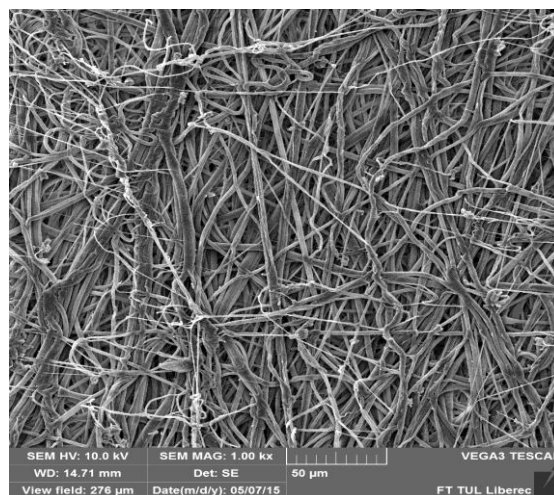
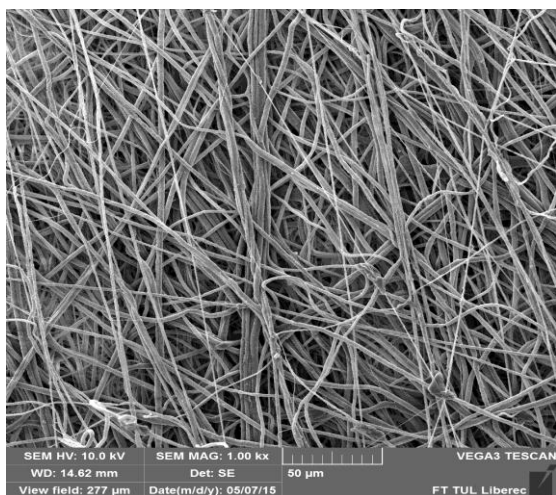


obr. 38: Finální sestava rotujícího kolektoru s doplněným popisem nejdůležitějších částí. Kde 1 – zvláknovací jehla, 2 – přípravek zajišťující zahřívání polymeru během zvláknování, 3 – rám zařízení, 4 - přípravek pro možnost použití posuvu, 5 – přivedení vysokého napětí, 6 – rotující kolektor, 7 – přidavný kolektor, 8 – regulace teploty, 9 – lineární pumpa.

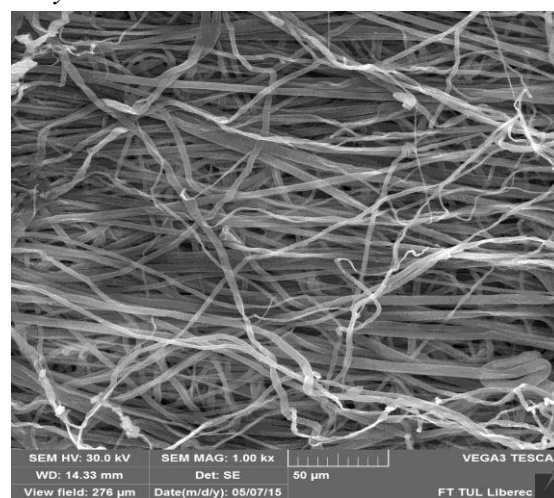
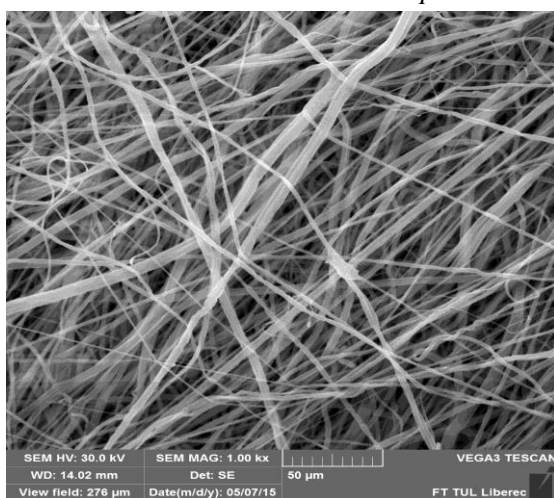
Na následujících „obrázcích 39 – 42“ budou uvedeny snímky tubulárních útvarů, které byly následně podrobeny měření transportu kapalin.



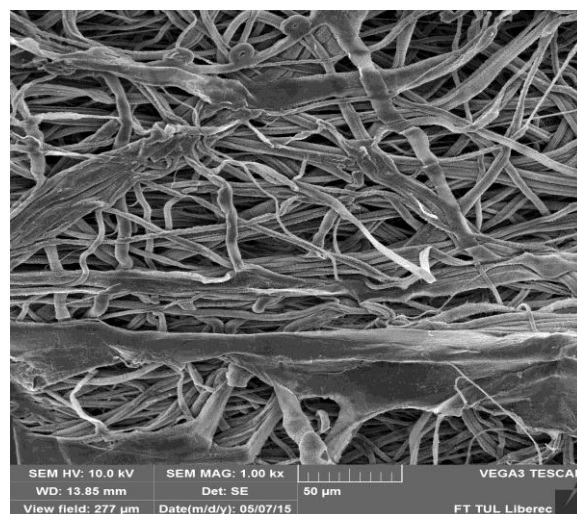
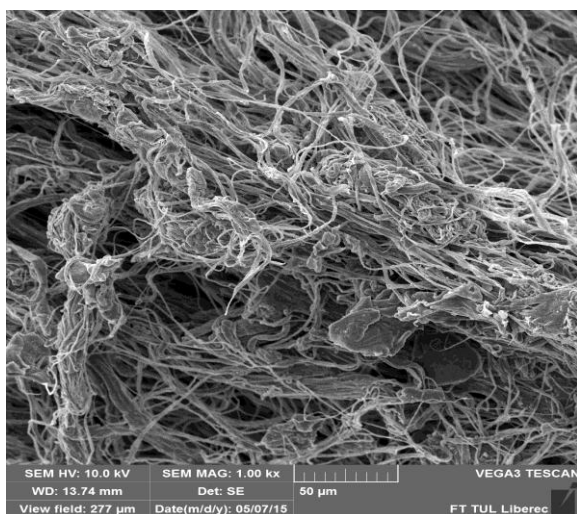
Obr. 39: SEM snímky PVDF (Kynar) zvětšené 5000. Vlevo je snímek vnější a vpravo vnitřní strany tubulu.



Obr. 40: SEM snímky PVDF (Kynar) s 0,87% PEO zvětšené 1000 x. Vlevo je snímek vnější a vpravo vnitřní strany tubulu



Obr. 41: SEM snímky PVDF (Kynar) s 1,64% PEO zvětšené 1000 x. Vlevo je snímek vnější a vpravo vnitřní strany tubulu.

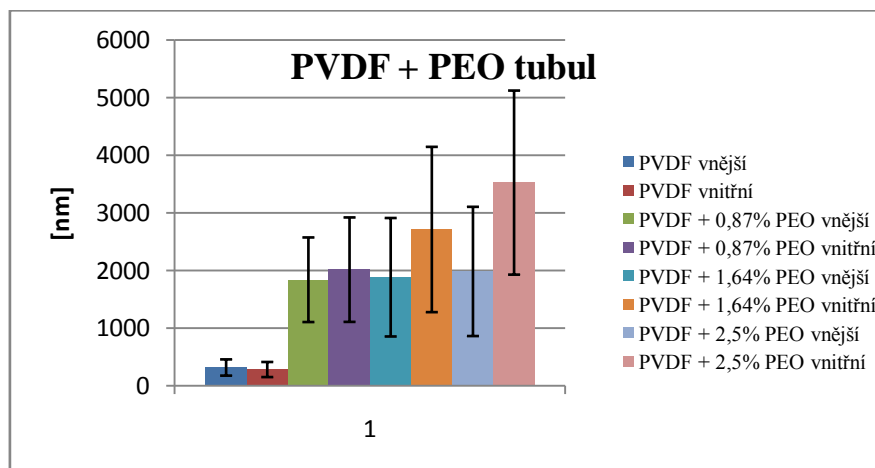


Obr. 42: SEM snímky PVDF (Kynar) s 2,5% PEO zvětšené 1000 x. Vlevo je snímek vnější a vpravo vnitřní strany tubulu.

Ze SEM snímků uvedených na „obrázcích 39 až 42“ je patrné, že nejlepší struktury se podařilo dosáhnout při výrobě z roztoku PVDF s 0,87 resp. 1,64 % PEO v rozpouštědle DMAC/Aceton (8/2). Nejlepší struktura, zejména podle snímku z vnitřní strany tubulu se ukázala PVDF s 1,64% PEO. SEM snímky jsou uvedeny na „obrázku 41“. Z tohoto obrázku nejsou zřejmé žádné výrazné defekty, ať ve vláknech nebo struktuře vrstvy. Na „obrázku 41“ vpravo si lze všimnout pouze několika poškozených vláken. Na vině nebyla špatná volba zvláknovacích podmínek, ale defekty byly způsobeny při odstranění tubuly z povrchu rotujícího kolektoru. To je také důvod, proč právě drény vyrobené z této kombinace polymerů byly podrobeny experimentům zkoumajících průtok podle Darcyho zákona.

n = 100	[nm]	Průměr vláken	St. odchylka	Minimum	Maximum
PVDF vnější		315,81	141,14	101,83	806,79
PVDF vnitřní		280,9	131,11	130,92	938,67
PVDF + 0,87% PEO vnější		1838,59	734,04	425,5	4204,86
PVDF + 0,87% PEO vnitřní		2013,68	906,5	509,08	4613,08
PVDF + 1,64% PEO vnější		1882,15	1028,63	644,79	6913,47
PVDF + 1,64% PEO vnitřní		2710,58	1434,57	486,11	10637,44
PVDF + 2,5% PEO vnější		1982,76	1121,86	697,25	7741,76
PVDF + 2,5% PEO vnitřní		3524,32	1597,9	853,84	9700,65

Tabulka 10: Průměr vláken [nm] pro $n = 100$. Polymer PVDF a PVDF s PEO v různých koncentracích.



Graf 5: Průměr vláken PVDF s PEO, porovnání vnější a vnitřní strany tubulu.

V tabulce 10 jsou uvedeny průměry vláken, které byly naměřeny na SEM snímcích. Tyto snímky nalezneme v „obrázcích 39 – 42“. Z této tabulky vyplývá prokazatelný vliv přidaného PEO na rostoucí průměr vláken. Od samotného PVDF, kdy se průměry vláken pohybovaly okolo 300 nm, až po PVDF s 2,5% PEO, při jehož zvláknování vzrostly průměry vláken až desetinásobně.

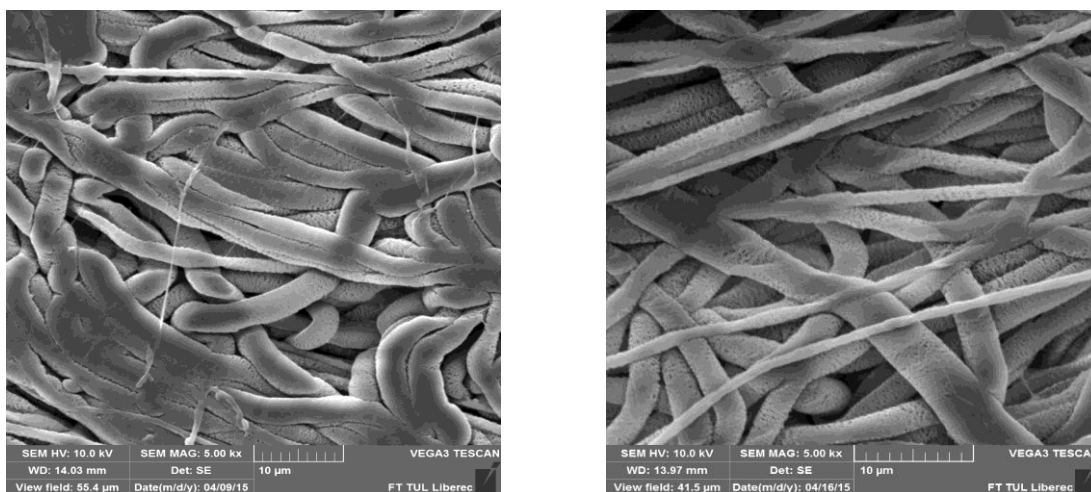
3.5 Vymývání PEO

Při elektrostatickém zvlákňování PVDF s určitou koncentrací PEO byly získána vlákna složená ze dvou druhů polymerů, z nichž každý byl rozdílných vlastností, zejména co se týká rozpustnosti ve vodě. Z tohoto důvodu bylo předpokládáno vymytí PEO ze struktury vodou nerozpustného PVDF. Vzniklá porézní vlákna by poté měla kladně ovlivňovat transport kapaliny skrze zkoumaný drén.

Vymývání PEO probíhalo na zařízení Heidolph Vibramax 100. Vždy po čtyřech kusech drénů o délce 1,5 cm v 15 ml destilované vody při laboratorní teplotě. Otáčky byly nastaveny na 450 rpm. Vymývání probíhalo po dobu 30 hodin.

Výše řečené bylo možno pozorovat pouze u největší koncentrace přidaného PEO 2,5%. Na „obrázku 43“ jsou SEM snímky PVDF s 2,5% PEO. Vlevo je snímek vláknenného útvaru před vymýváním a vpravo po částečném vymytí PEO ze struktury vlákna. U menších koncentrací (0,87% a 1,64% PEO) nebylo možné definovat rozdíly.

Snímky vláknenné vrstvy po vymytí prokázaly nepatrně více porézní strukturu, která by ale v konečném výsledku neměla významně ovlivnit transport tekutiny. Nedalo se totiž předpokládat vzájemné propojení jednotlivých pórů. Přesto při měření transportu byly prováděny experimenty na vymytých útvarech.



Obr. 43: SEM snímky PVDF (Kynar) s 2,5% PEO vnitřní vrstvy zvětšené 5000 x. Vlevo je snímek před vymytím a vpravo po vymytí PEO.

3.6 Měření transportu kapaliny

Tato část bude vycházet z kapitoly 2.3.4, kde je vysvětlen Darcyho zákon. Prvním úkolem bylo zjistit k byrety podle vztahu (14), dále označováno jako k_b . Q je označován průtok [$\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$], Δp výška hladiny v kapiláře. V tomto případě byla zvolena hodnota

15 torr, která je považována za ideální nitrooční tlak. Jednoduchým převodem zjistíme Δp_b .
 $1 \text{ torr} = 133,3 \text{ Pa} \rightarrow 15 \text{ torr} = 2000 \text{ Pa}$. Z tlaku je pomocí vztahu $\Delta p = \rho \cdot g \cdot h$ vypočtena výška hladiny, která zajistí danou tlakovou sílu $\rightarrow h = 20 \text{ cm}$.

$$k_b = \frac{Q_b}{\Delta p_b}$$

$$1) \quad Q_b = 1,7722 \cdot 10^{-6} [\text{m}^3/\text{s}], \quad \sigma = 9,859 \cdot 10^{-9} \text{ a } \sigma^2 = 9,72 \cdot 10^{-17}$$

k zjištění k_v byl použit drén o délce $1,5 \text{ cm} \rightarrow h = 21,5 \text{ cm} = 2109 \text{ Pa}$

$$2) \quad Q_v = 2,103 \cdot 10^{-6} [\text{m}^3/\text{s}], \quad \sigma = 6,7082 \cdot 10^{-9} \text{ a } \sigma^2 = 4,5 \cdot 10^{-17}$$

$$\text{dle vztahu by mělo platit: } k_v = \frac{k_b Q}{\Delta p k_b - Q} = \frac{1,8646 \cdot 10^{-15}}{-2,27 \cdot 10^{-7}} = \text{nelze}$$

Dle získaných výsledků z měření transportu kapalin skrze tubulární útvar bylo zjištěno, že podle Darcyho zákona nelze vypočítat k_v , vysvětleno v (kapitole 2.3.4). Důvodem byl záporný jmenovatel v podílu právě pro výpočet k_v . Tato situace mohla být důsledkem pozorování velmi zajímavého jevu během praktického pokusu. Při experimentu byly totiž získány hodnoty, které v případě průtoku vody skrze drén vycházeli větší, než v případě proudění vody byretou bez vzorku.

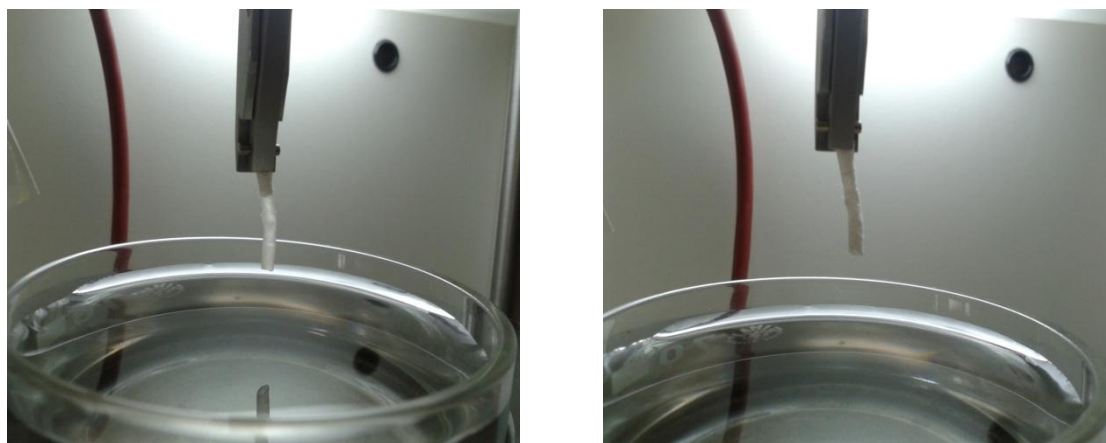
Chybné získání hodnot mohlo být způsobeno i nevhodnou volbou ústí byrety. Darcyho zákon platí pouze v případě laminárního proudění. Pokud na rozhraní byrety a drénu došlo k turbulentnímu proudění, mohl tím být ovlivněn i celkový průtok Q . Proto je zde návrh experimentu, který by mohl pomoci vysvětlit popisovaný děj. Místo vlákného drénu délky $1,5 \text{ cm}$ a vnitřního průměru 2 mm , by na ústí byrety mohla být umístěna silikonová hadička stejného průměru a délky. U této hadičky jsou hladké stěny a nejsou zde jakékoli póry. Poté by už jen zbývalo změřit průtok a určit, zda je pozorován stejný jev.

3.7 Měření sorpce

Cílem tohoto měření bylo zjistit absorpci kapaliny vyrobených vlákných materiálů. Pro každý typ polymeru byly testům podrobeny 4 vzorky. V praxi se tyto testy značí pro názornost [g/g], jinak se jedná o bezrozměrnou veličinu (hmotnost nasáklé kapaliny v gramech vztažené na 1 gram materiálu). Proto tomu nebude jinak ani v tomto případě.

K měření bylo využito přístroje KRUSS, jeho velikou výhodou je velmi přesné měření požadovaných vlastností, v tomto případě hmotnost sorbované kapaliny. Při měření

byly pozorovány dva případy. Jedním z nich bylo prokazatelné smočení zkoumaného drénu během měření. V druhém případě se jevil drén suchý zjevně na „obrázku 44“. Tento rozdíl nebyl pozorován pouze mezi jednotlivými druhy polymeru, ale i mezi shodným typem. To samozřejmě mělo veliký vliv na získané hodnoty.



Obr. 44: Fotky drénu v obou případech po skončení měření. Na obrázku vlevo je drén evidentně mokrý, v druhém případě je drén suchý. Tento problém značně ovlivnil celé měření.

Měření probíhalo 120 sekund, během kterého bylo zaznamenáno deset hodnot. Tyto hodnoty byly vynášeny v grafu jako závislost absorpce množství kapaliny na čase. Jako kapalina byla použita destilovaná voda. V následující „tabulce 11“ jsou uvedeny získané hodnoty. Je třeba zdůraznit, že se jednotlivé hodnoty od sebe výrazně liší, na vině je výše popsaný problém, znázorněný na „obrázku 44“.

Výsledky v „tabulce“ 11 jsou značně odlišné, bohužel ve většině případů rozptyl nabývá větší hodnoty, než je hodnota průměrná. Nejlepších hodnot bylo dosaženo při měření absorpce na tubulu vyrobeného z PVDF s 0,87% PEO. Kdy získaná hodnota sorpce činí $0,476 \pm 0,075$ [g/g] ($g_{\text{vody}}/g_{\text{vláken}}$).

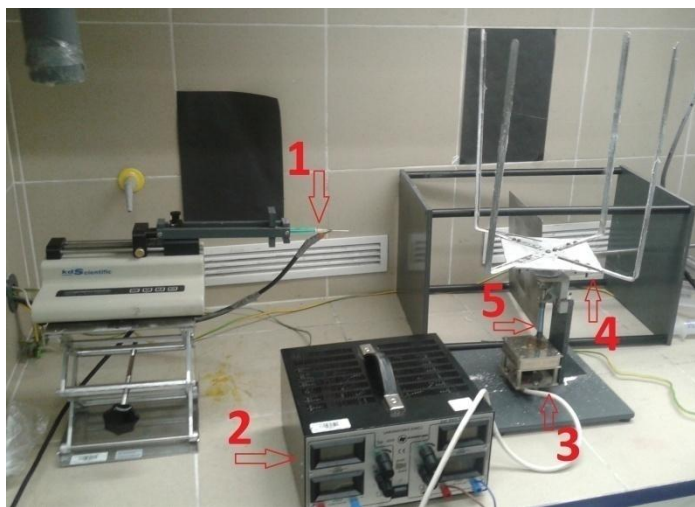
[g/g]	PVDF	PVDF+0,87% PEO	PVDF+1,64% PEO	PVDF+2,5% PEO
	0,211538	0,131783	2,212121	11,31818
	0,389831	0,663717	6,404762	15,25926
	27,18421	0,813433	0,838384	4,166667
	0,492754	0,293103	3,445455	29,41667
Průměr	7,069583	0,47551	3,22518	15,04019
Směr. odch.	13,41025	0,31677	2,372154	10,62729
Rozptyl	134,8762	0,07526	4,220336	84,70448

Tabulka 11: Získané hodnoty na zařízení KRUSS. Výsledky jsou uvedeny v absorpci kapaliny (g) vztažených na hmotnost vzorku (g) [g/g] .

Smočení, respektive nesmočení zkoumaného vzorku během experimentu absorpce by mohlo být vysvětleno neúplným nebo naopak úplným vymytím PEO ze struktury PVDF. Jelikož je PEO velmi hydrofilní, lze předpokládat, že při neúplném vymytí zásadně ovlivní předpokládané vlastnosti. Stejným předpokladem může být i výskyt nehomogenit ve struktuře drénu, které svými póry mohou způsobit řečený problém. Samozřejmě se dané může ještě vzájemně ovlivnit. Nicméně je zřejmé zvýšení sorpce přibližně o řád mezi jednotlivými koncentracemi přidaného PEO.

3.8 Výroba příze

V této části bude popsána příprava paralelizovaných vláken pomocí elektrostatického zvlákňování, která byla základem pro vytvoření nanovláknenné příze. Tato vlákna byla připravena elektrostatickým zvlákňováním na speciální kolektor, znázorněný na obrázku 45. Následovalo sejmutí vzniklých vláken z „trnů“ kolektoru, takto získaným vláknům zbývalo udělit tzv. „zákrut“ pro vznik příze.



Obr. 45: Zařízení pro přípravu paralelizovaných vláken s popisem jednotlivých částí, kde 1) zvlákňovací jehla s přivedeným vysokým napětím, 2) zdroj stejnosměrného napětí, 3) stejnosměrný motorek pro zajištění otáčení kolektoru, 4) otočný kolektor s jednotlivými „trny“, 5) nevodivé oddělení motorku a kolektoru.

Nevodivé oddělení motorku a kolektoru se ukázalo jako značná výhoda, díky tomu nastala možnost přivedení záporného vysokého napětí přímo na kolektor, což vyřešilo problém s ukládáním vláken mimo něj.

3.8.1 Příprava paralelizovaných vláken

Vyrobená příže by při vložení do drénu mohla napodobit odpor, který je kladen trabekulární síťovinou v odtoku nitrooční tekutiny. Tento odpor by mohl být ovlivněn množstvím uděleného zákrutu paralelizovaným vláknům. Vložená příže by rovněž poskytla oporu tubulárnímu drénu a bránila by v jeho nežádoucím smrštění.

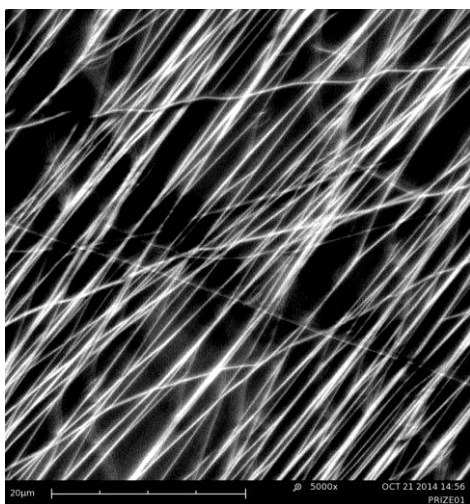
Zvolené polymerní materiály pro výrobu orientovaných vláken byly PVA (síťovaný, nesíťovaný), PVDF Kynar 720 s příměsí PEO a samotný PVDF. Nejprve bude popsána příprava vláken z polymeru PVA, zde bude diskutován zejména vliv přidávaných síťovacích činidel do roztoku polymeru. Bude následovat popis zvlákňování PVDF a PVDF s různou koncentrací PEO.

Zvlákňování PVA

Podmínky zvlákňování jsou uvedeny v tabulce 12, kde si lze všimnout významných rozdílů při zvlákňování síťovaného, respektive nesíťovaného PVA. Pokud se vlákna získávala z PVA bez přidání síťovadel, nebyl pozorován problém vyrobit vlákna mezi trny vzdálenými od sebe 20 centimetrů. V případě přidání síťovacích činidel byla optimální vzdálenost trnů 2,5 centimetrů. U takto krátkých vláken byl problém vytvořit zákrut pro vznik příže. Je zřejmé, že síťovací činidla měla negativní vliv na délku vzniklých vláken. Na obrázku 46 je uveden SEM snímek získaných paralelizovaných vláken PVA. Z důvodu požadavku získat delší přízi bylo přistoupeno ke zvlákňování PVDF.

<i>Podmínky zvlákňování</i>			
	PVA nesít'.	PVA síť.	
<i>Teplota</i>	24	23	[°C]
<i>Vlhkost</i>	nemá vliv	nemá vliv	[%]
<i>Vzdálenost</i>	15	5,2	[cm]
<i>Vzdál. Trnů</i>	20	2,5	[cm]
<i>Napětí +</i>	15	18	[kV]
<i>Napětí -</i>	-3	-3	[kV]
<i>Zahřívání</i>	----	----	[°C]
<i>Čas</i>	5 - 10	5 - 10	[min]
<i>Dávkování</i>	1	1	[μl/h]

Tabulka 12: Podmínky zvlákňování PVA. Značné rozdíly v případě přidání síťovadla.



Obr. 46: Vlevo paralelizovaná vlákna připravená z PVA zvětšení 5000x a vpravo přípravek pro jejich přípravu s trny vzdálenými 2,5 cm

Zvlákňování PVDF

Jelikož vlákna připravená touto metodou z polymeru PVA byla příliš krátká, bylo snahou vytvořit delší, na kterých by nebyl problém vytvořit zákrut. Dalším důvodem byla samozřejmě i větší produktivita. Při zvlákňování samotného PVDF se nepodařilo vytvořit žádná vlákna, ani na vzdálenost menší jeden centimetr. To bylo překvapivé, jelikož v případě rotujícího kolektoru byla tvorba vláken pozorována bez sebevětšího problému.

V případě přidání PEO v koncentracích 0,87%, 1,64% a 2,5% byl pozorován vznik vláken. Přidáním PEO bylo dosaženo získání lepších mechanicko-elastických vlastností. Nevýhoda proti zvlákňování PVA spočívala opět v nutnosti držet vlhkost v rozmezí 60 % – 65 % RH a zahřívát polymerní roztok během zvlákňování na 60 °C. V „tabulce 13“ jsou uvedeny podmínky zvlákňování. V „tabulce 14“ jsou změřeny průměry paralelizovaných vláken spolu s „grafem 6“, kde jsou tyto průměry vyneseny.

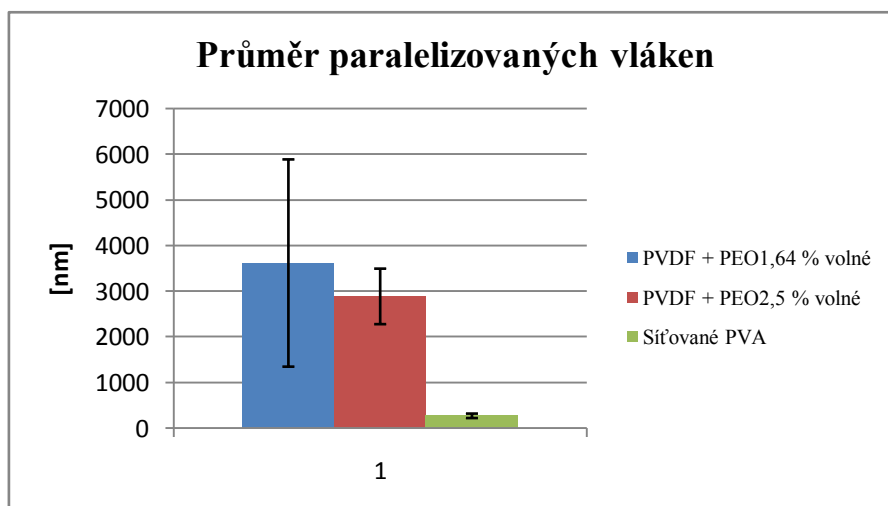
Podmínky zvlákňování

	PVDF+0,87%PEO	PVDF+1,64%PEO	PVDF+2,5%PEO	
<i>Teplota</i>	24	24	25	[°C]
<i>Vlhkost</i>	60 - 65	60 - 65	60 - 65	[%]
<i>Vzdálenost</i>	20	20	20	[cm]
<i>Vzdál. trnů</i>	18	18	18	[cm]
<i>Napětí +</i>	16	16	16	kV]
<i>Napětí -</i>	3	3	3	[kV]
<i>Zahřívání</i>	60	60	60	[°C]
<i>Čas</i>	5	5	5	[min]
<i>Dávkování</i>	0,75	0,75	0,75	[μl/h]

Tabulka 13: Podmínky zvlákňování při výrobě paralelizovaných vláken z PVDF s PEO.

n= 100 [nm]	Průměr	St. odchylka	Minimum	Maximum
PVDF + PEO1,64 % volné	3622,65	2270,65	1589,51	10537,04
PVDF + PEO2,5 % volné	2891,45	608,54	1336,6	4676,61
Síťované PVA	275,88	48,64	171,55	434,54

Tabulka 14: Průměry paralelizovaných vláken určených pro výrobu příze.

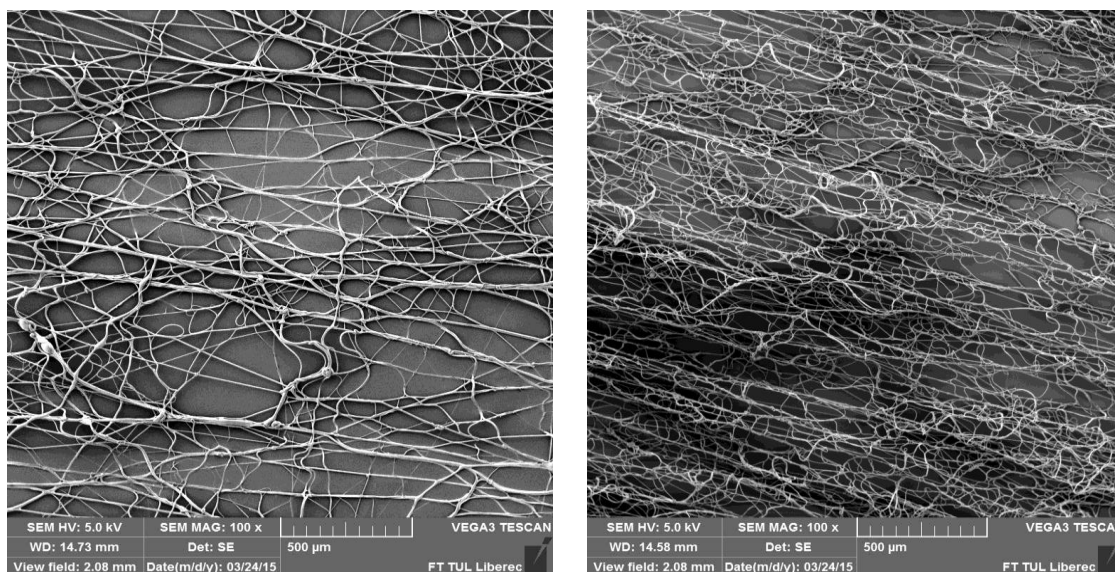


Graf 6: Průměry paralelizovaných vláken, obrovský rozdíl mezi PVDF s PEO a PVA

U nejnižší koncentrace PEO (0,87%) byl pozorován zajímavý jev během tvorby vláken. Bohužel to způsobilo nesteroměrnost vrstvy a tím nemožnost vytvořit stejnoměrnou přízi. Tento jev byl způsoben otáčením kolektoru, odstředivá síla měla za následek vytvoření více vláken v blízkosti trnů. Musíme brát v úvahu i větší intenzitu elektrického pole v jejich blízkosti. Znázornění problému na „obrázku 47“.

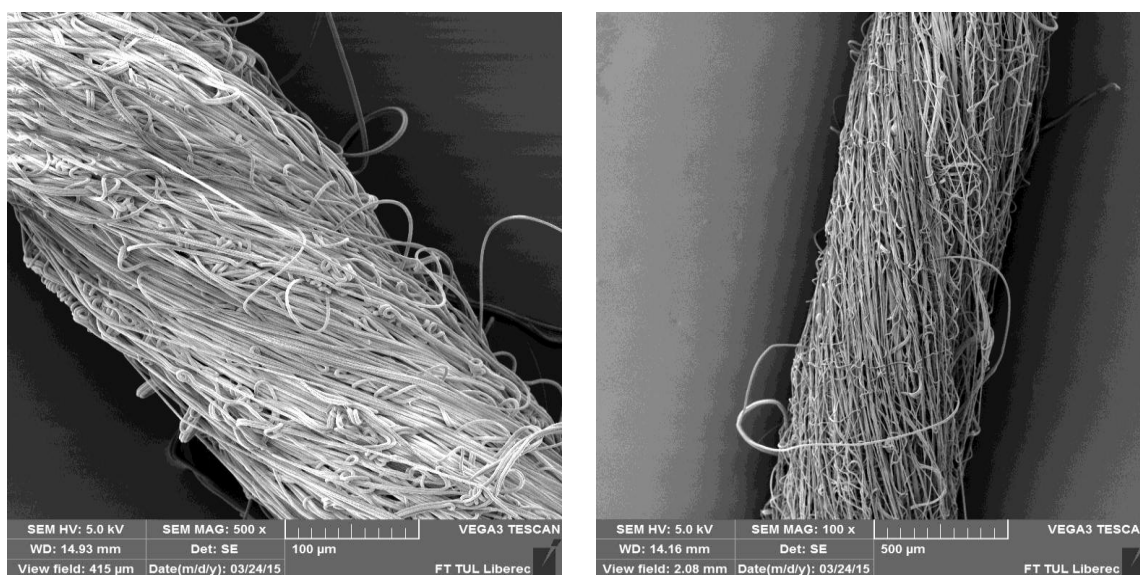


Obr. 47: Problém tvorby paralelizovaných vláken vlivem odstředivé síly způsobené otáčejícím se kolektorem a nesteroměrnou elektrickou intenzitou v oblasti trnů.



Obr. 48: SEM snímky paralelizovaných vláken zvětšené 100x, vlevo PVDF s 1,64%PEO vpravo PVDF s 1,64% PEO. Jsou zjevné velké defekty proti PVA

Na „obrázku 49“ jsou SEM snímky připravených přízí. Nejsou uvedeny jejich průměry, z důvodu mnoha vlivů, které mohou ovlivnit jejich průměr. Hlavní vliv bude mít množství vláken, kterým bude udělen zákrut a z nichž příze vznikne. Dále je průměr příze velmi zásadně ovlivněn množstvím zákrutu a velikostí napětí, při kterém byl udělen. Příprava příze byla pouze okrajovou částí této práce, proto je zde uvedena pouze ve stručnosti.



Obr. 49: SEM snímky připravených přízí: Vlevo PVDF s 1,64% PEO ve zvětšení 500x, vpravo PVDF s 2,5 % PEO ve zvětšení 100x.

Shrnutí

Diplomová práce byla zaměřena na výrobu nanovláknenného drénu, který by měl být aplikován pro léčbu glaukomu. Jeho funkcí je odvádění nitrooční tekutiny a tím snížení nitroočního tlaku. Teoretická část práce se věnuje popisu glaukomu, jeho typům a možnostem léčby. Značná pozornost je věnována zejména drenážním implantátům. Dále je popsána buněčná adheze, možnost zkoumání transportu kapalin na připravených drénech. Jsou uvedeny důležité informace o používaných materiálech. Tyto informace byly následně využity pro vypracování experimentální části.

Na základě buněčných testů byly zvoleny vhodné polymerní materiály z hlediska nemožnosti proliferace buněk na daném povrchu. Pro tyto materiály bylo třeba najít vhodný rozpouštědlový systém. Prvním typem polymeru pro elektrostatické zvlákňování bylo zvoleno PVA (Mowiol 18-88, Mw 160 000), kvůli jeho rozpustnosti ve vodě bylo potřeba přidat síťovací činidla. Z několika koncentrací se jevilo jako nejlepší 12% PVA v roztoku vody. Tento polymer se při zvlákňování na rotující kolektor ukázal jako nevhodný, nebylo možné získat neporušenou tubulu. Proto bylo přistoupeno ke zvlákňování druhého vhodného materiálu, kterým bylo PVDF. V případě tohoto polymeru byly zvlákňovány dva druhy (Kynar 720, Solef) pro každý typ byla zvolena jedna koncentrace 16,7 %, ale rozdílné rozpouštědlo. Pro typ Solef bylo rozpouštědlem DMAC a v případě Kynaru DMAC/Aceton (8/2).

Pro jednotlivé druhy a typy polymeru byly vždy přehledně v tabulkách uvedeny zvlákňovací podmínky a změřené průměry vláken, které byly pro názornost vyneseny do grafů. Tyto informace jsou doplněny o SEM snímky a diskuze o vlivu jednotlivých podmínek na elektrostatické zvlákňování.

Získané tubulární útvary byly podrobeny měření transportu kapaliny. Celkově byly provedeny dva experimenty. Prvním z nich bylo měření průtoku skrze vzorek získaného drénu a cílem bylo zjistit výsledný vliv vzorku na průtok. Druhým případem bylo měření absorpce pomocí zařízení KRUSS. Kdy získané výsledky byly vyneseny v množství sorbované kapaliny vztažené k hmotnosti vzorku (g/g).

Následoval popis výroby příze z paralelizovaných vláken. Pomocí této příze by mohl být snadno získán potřebný odpor nutný pro udržení žádaného nitroočního tlaku. Jednoduchou volbou množství zákrutu by mohl být ovlivněn odpor pro proudění nitrooční tekutiny.

Závěr

Vhodnými materiály pro výrobu očního nanovláknenného drénu se ukázaly z hlediska potlačení fibrotizace polymery PVA a PVDF. V případě prvního polymeru byl pozorován zejména vliv síťovacích činidel na tvorbu vláken během elektrostatického zvlákňování. Byly hodnoceny průměry vláken a defekty ve vzniklých vláknenných strukturách. V případě zvlákňování na rotující kolektor mělo přidání síťovadla nepatrný vliv na zvýšenou tvorbu defektů. Z hlediska průměrů jednotlivých vláken nebyl pozorován znatelný rozdíl. Je ale třeba zmínit, že při použití tohoto materiálu byla připravena vlákna nejmenšího průměru (cca 250 nm). Nicméně vláknenná vrstva byla tak slabá, že ji nebylo možné jakkoli sundat. Proto bylo přistoupeno k zvlákňování PVDF.

U tohoto polymeru byly použity dva typy PVDF a to Solef a Kynar 720. Pro každý typ byl zvolen jiný rozpouštědlový systém. Lepších parametrů bylo dosaženo u Kynaru 720 v roztoku DMAC/Aceton (8/2). Důležitějším parametrem během elektrostatického zvlákňování bylo dodržet zahřívání polymerního roztoku na 60 °C. Za zcela zásadní se projevil vliv relativní vlhkosti. Právě mezi hodnotou 60 – 65 % RH nedocházelo k tvorbě defektů ve vláknenné struktuře. Z důvodu špatných mechanických vlastností byl přidán PEO, který měl zlepšit pružnost vzniklých vláken. Jako nejlepší se jevila koncentrace 1,64 % PEO v roztoku PVDF.

Přidáním PEO byl mimo jiné pozorován i vliv zvýšení průměru vláken v závislosti na množství PEO. To se následně projevilo i v měření transportu kapalin (absorpci). Zvyšující se nasákavost materiálu se projevovala se zvyšující se koncentrací PEO. Nutné je konstatovat, že v těchto měřeních byly velmi velké směrodatné odchylky, které mohly být způsobeny neúplným vymytím PEO. To mělo za důsledek smočení, respektive nesmočení vláknenného tubulu během měření. Druhou významnou roli mohly sehrát nehomogenity ve struktuře vrstvy. Zde bych si dovoluoval do budoucna navrhnout optimalizaci výroby drénu pro získání lepších výsledků během měření absorpce.

Na základě rozdílných vlastností materiálů PVDF a PEO se v případě vymývání vodou předpokládalo vymytí právě PEO ze struktury PVDF. Vzniklá porézní struktura by poté mohla ovlivnit měření transportu kapaliny. Překvapivě se ukázalo, že na vznik porézní struktury nemělo až tak významný vliv vymytí PEO pomocí vody, jako spíše relativní vlhkost během zvlákňování.

Dále byl na vyrobených tubulárních útvarech zkoumán průtok kapaliny. Experiment probíhal následovně, nejprve byl změřen průtok kapaliny skrze samotnou

byretu a poté s přidaným tubulárním útvarem, který byl umístěn na konci byrety. V tomto případě byl pozorován velmi zajímavý jev, kdy průtok s drénem byl větší, než v případě samotné byrety. Pro potvrzení správnosti měření a ujištění, zda je průtok skutečně ovlivněn vláknitou strukturou, bych navrhl změřit průtok přes silikonovou hadičku stejných parametrů (délka a průměr), u které se dá předpokládat hladkost vnitřní stěny. Mimo tohoto experimentu byla měřena i absorpce vyrobených drénů. Bohužel získané výsledky měly velkou výchytku. Ta mohla být způsobena neúplným vymytím PEO ze struktury PVDF, což mělo za důsledek rozdílnou smáčivost jednotlivých vzorků. Druhým důsledkem mohly být nehomogenity drénů, u nichž by do budoucna bylo potřeba optimalizovat výrobu. Jediným prokazatelným výsledkem byla rostoucí absorpce se stoupající koncentrací přidaného PEO.

V poslední kapitole je popisována příprava příze z paralelizovaných vláken. Právě pomocí takto připraveného materiálu by mohl být snadno získán přirozený odpor nutný pro udržení žádaného nitroočního tlaku. Jednoduchou volbou množství zákrutů by pak mohl být ovlivněn odpor v proudění nitrooční tekutiny. Vyplnění tubulárního útvaru přízí by nemělo za úkol pouze klást odpor v odvodu tekutiny, ale zároveň poskytovat oporu drénu proti jeho smrštění. V této části se ukázaly jako vhodné PVDF s PEO (0,87% a 1,64%).

Literatura

- [1] –ARENBERGER, P. *Vybrané kapitoly z ušního, nosního, krčního, očního a kožního lékařství: Učební texty pro zdravotní sestry*. Praha: Czechopress Agency, 1993, 118 s.
- [2] - FLAMMER, J. *Glaukom: průvodce pro pacienty : úvod pro zdravotníky : příručka pro rychlou informaci*. 1. české vyd. Praha: Triton, 2003, 417 s.
- [3] - KUCHYNKA, P. *Oční lékařství*. 1.vyd. Praha: Grada, 2007, [40], 768 s.
- [4] - KRAUS, H. *Oční zákaly*. 1. vyd. Praha: Grada, 2001, 149 s.
- [5] - KADLECOVÁ, V. *Gonioskopie*. 1. vyd. Praha: Československá akademie věd, 1961, 143 s.
- [6] - MLČÁK, P., a kol. *Chirurgická léčba glaukomu*. 2009, 5 s.,
- [7] - KUCHYNKA, P. *Trendy soudobé oftalmologie: svazek 1*. Praha: Galén, 2000.
- [8] - BRECHT, B. *Briefe*. Berlin: Aufbau-Verlag, c1998.
- [9] - SARKISIAN, S. The ex-press mini glaucoma shunt: Technique and experience. *Middle East African Journal of Ophthalmology*. 2009, vol. 16, issue 3.
- [10] – FILTECH ENTERPRISE. *Express - Mini Glaucoma*. 1994.
- [11] – Molteno. IOP OPHTHALMICS. [online]. [cit. 2015-04-06].
- [12] – BARTON, K., a kol. Three-year Treatment Outcomes in the Ahmed Baerveldt Comparison Study. *Ophthalmology*. 2014, vol. 121, issue 8, s. 1547-1557.
- [13] - MARK, K. Engineering biocompatible implant surfaces. *Progress in Materials Science*. 2013, vol. 58, issue 3, s. 327-381.
- [14] - RAMALINGAM, M. *Integrated biomaterials in tissue engineering*. Salem, Mass.: Scrivener Pub., 2012, 299 s.
- [15] - BAČÁKOVÁ, L., a kol. *Modulation of cell adhesion, proliferation and differentiation on materials designed for body implants*. Biotechnology Advances. 2011, Vol 29, no. 6, s. 739 -767.
- [16] - KVASNICA, J. *Mechanika* 1. vyd. Praha: Academia, 1988
- [17] - DRÁBKOVÁ, S. *Mechanika tekutin*. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita, 2007.
- [18] - PLÉHA, D. *Nanofibrous separators for lithium-ion batteries* [online]. VUT Brno, 2013, 5s.
- [19] - STUART, T., a kol., Modelling of wicking and moisture interactions of flax and viscose fibres. *Carbohydrate Polymers*. 2015, vol. 123, s. 359-368.
- [20] - MARK, J. *Polymer data handbook*. New York: Oxford University Press, 1999, 1018 s.
- [21] - DAVIS, J. *Utopia and the ideal society: a study of English utopian writing, 1516-1700*. Cambridge: Cambridge University Press, 1981

- [22] - RESINEX. *PVDF - Polyvinylidenefluorid*. Distribution of Plastics & Elastomers. Czech Republic, 2015.
- [23] - ZHAI, Y., a kol.. Sandwich-structured PVdF/PMIA/PVdF nanofibrous separators with robust mechanical strength and thermal stability for lithium ion batteries. *Journal of Materials Chemistry A*. 2014, vol. 2, issue 35.
- [24] - DARESTANI, M. T., a kol. Piezoelectric membranes for separation processes: Fabrication and piezoelectric properties. *Journal of Membrane Science*. 2013, vol. 434, s. 184-192.
- [25] – MLEZIVA, J., a kol. *Polymery: výroba, struktura, vlastnosti a použití*. 2. přeprac. vyd. Praha: Sobotáles, 2000, 537 s.
- [26] – CLARIANT GmbH. *Mowiol – Polyvinyl Alcohol*. Sulzbach: Clariant, 1999, 105 s.
- [27] – DUCHÁČEK, V. *Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. Vyd. 2., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2006, 278 s.
- [28] - WANG, Y., a kol. *Crosslinking of polyvinyl alcohol (PVA) fibrous membranes with glutaraldehyde and PEG diacylchloride*. *Journal of Applied Polymer Science*. 2010,
- [29] – TUAN, Anh D. Effect of cross-linking agent on electrospinning of poly (vinyl) alcohol. 2010, 6 s.
- [30] - DOYCHEVA, Maria, a kol. UV-Induced Cross-Linking of Poly(ethylene oxide) in Aqueous Solution. *Macromolecular Materials and Engineering*. 2004, vol. 289, issue 7, s. 676-680.
- [31] - SMOLINSKE, S. C. *Handbook of food, drug, and cosmetic excipients*. Boca Raton: CRC Press, c1992, 439 s.
- [32] - NADANA, B. „Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique,“ *Biotechnology Advances*, 2009 , sv. 28, s. 325–347.
- [33] – LUKÁŠ, D., a kol., „Physical principles of electrospinning (Electrospinning as a nano-scale technology of the twenty-first century),“ *Textile Progres*, 2009, sv. 41, č. 2, s. 59–140.
- [34] - LÜLLMANN-RAUCH, Renate. *Histologie*. 1. české vyd. Praha: Grada, 2012, 556 s.
- [35] - MASCOTTI K. a kol.: *HPC viability measurement: trypan blue versus akridine orange and propidium iodide*, *TRANSFUSION*, 2000; 40 (6), s. 693-696
- [36] – NIEMINEN, A. a kol.: *A novel cytotoxicity Screening assay using a multiwell fluorescence scanner*, *TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMATOLOGY*, 1992, s. 147-155
- [37] - ROTH, B. a kol.: *Bacterial viability and antibiotic susceptibility testing with SYTOX green nucleid acid stain*, *APPLIED ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 1997, 63 (6), s. 2421-2431

Přílohy

Příloha A: Snímky z fluorescenčního mikroskopu při zkoumání proliferace na daném polymerním povrchu. Negativní kontrola díky snímkům jamky.

PI

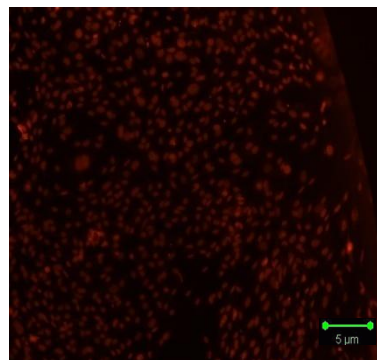
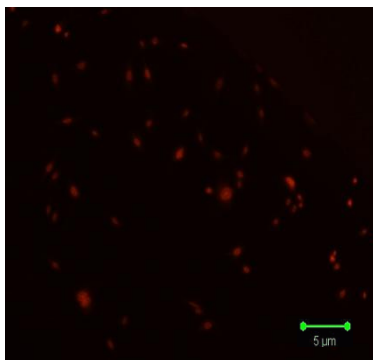
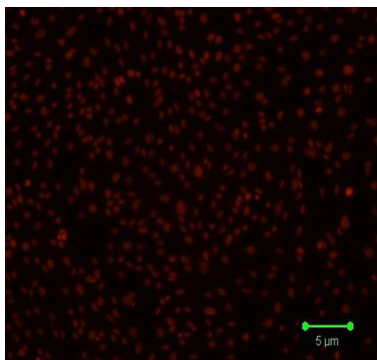
PA 6

jamka

1. den

3. den

7.den



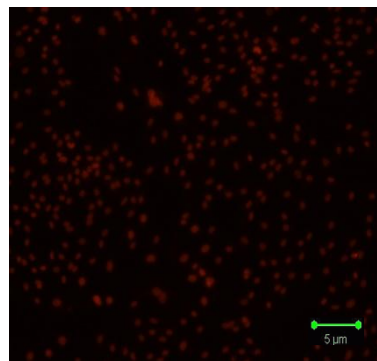
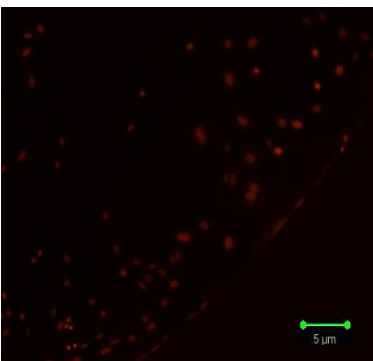
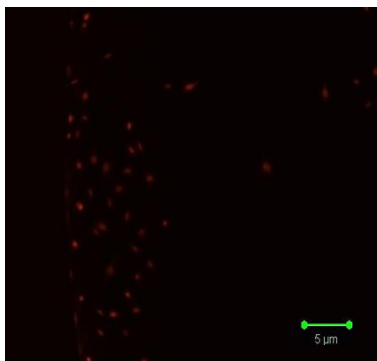
PAN

jamka

1. den

3. den

7.den



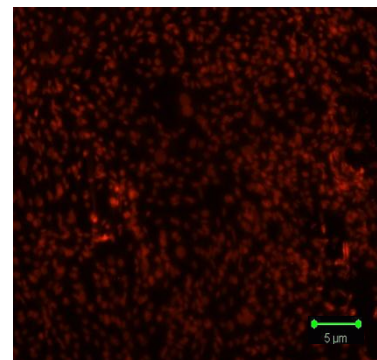
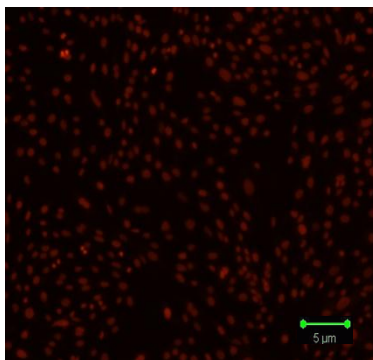
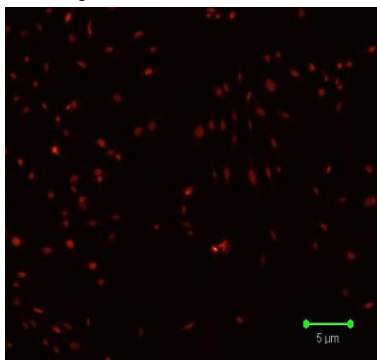
PUR

jamka

1. den

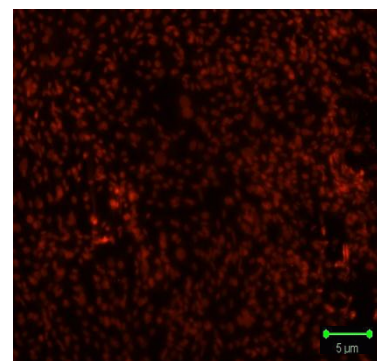
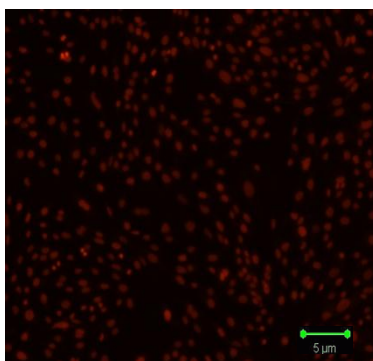
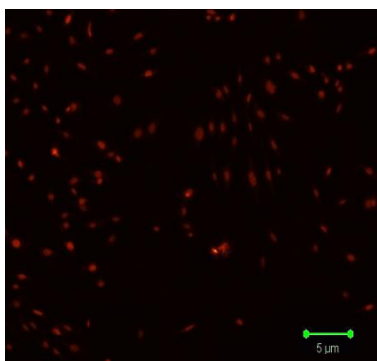
3. den

7.den



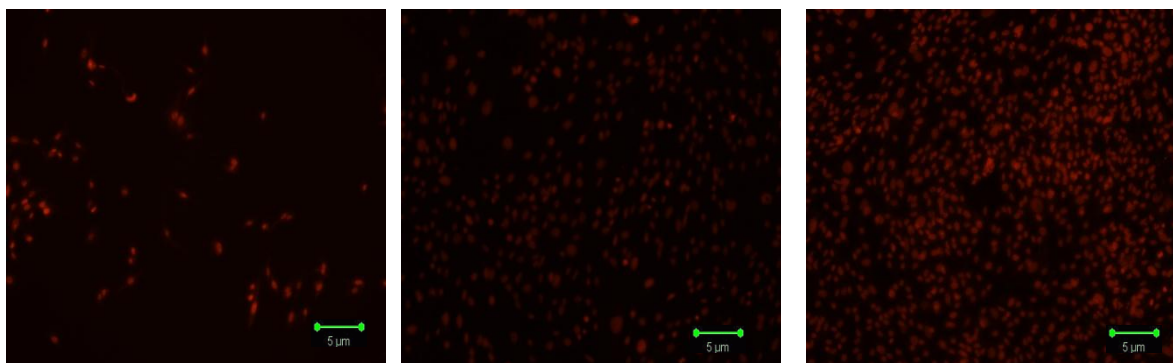
PVA

jamka



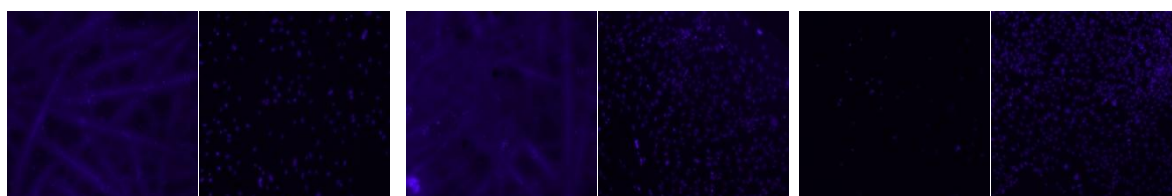
PI *1. den* *3. den* *7.den*

PVDF jamka

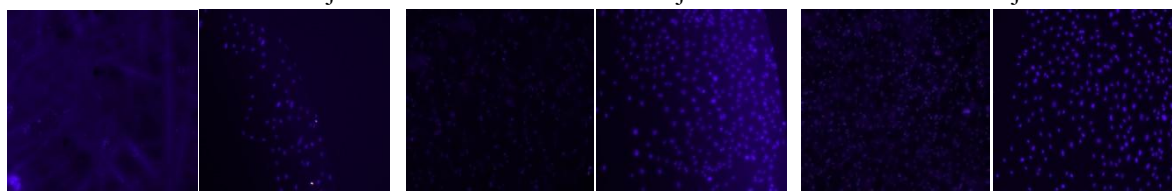


DAPI

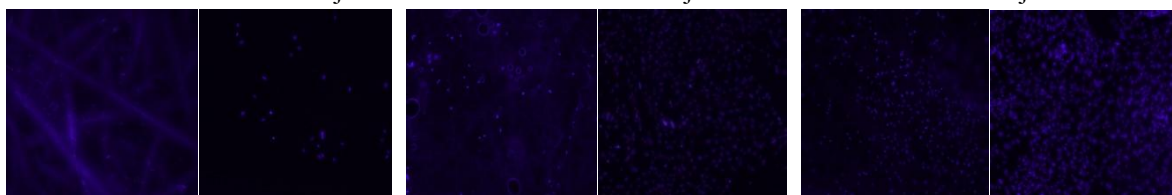
PA 6 *1. den* materiál/ jamka *3. den* materiál/ jamka *7.den* materiál/ jamka



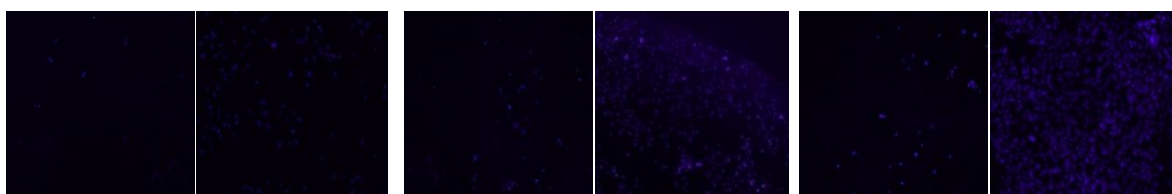
PAN *1. den* materiál/ jamka *3. den* materiál/ jamka *7.den* materiál/ jamka

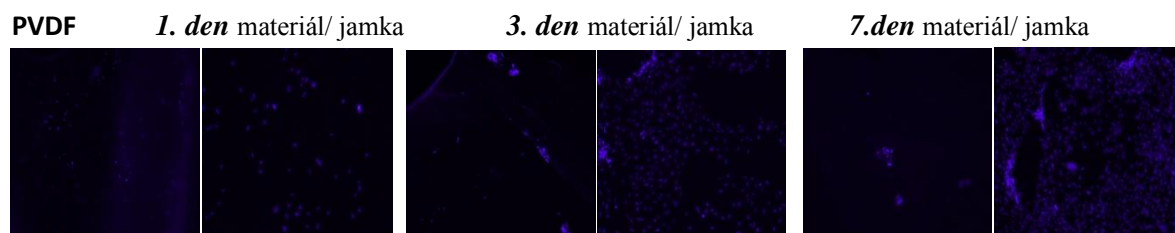


PUR *1. den* materiál/ jamka *3. den* materiál/ jamka *7.den* materiál/ jamka



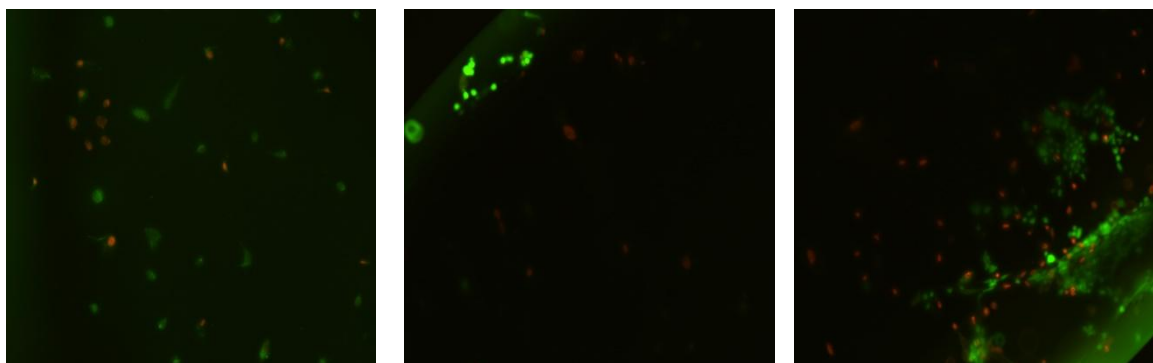
PVA *1. den* materiál/ jamka *3. den* materiál/ jamka *7.den* materiál/ jamka



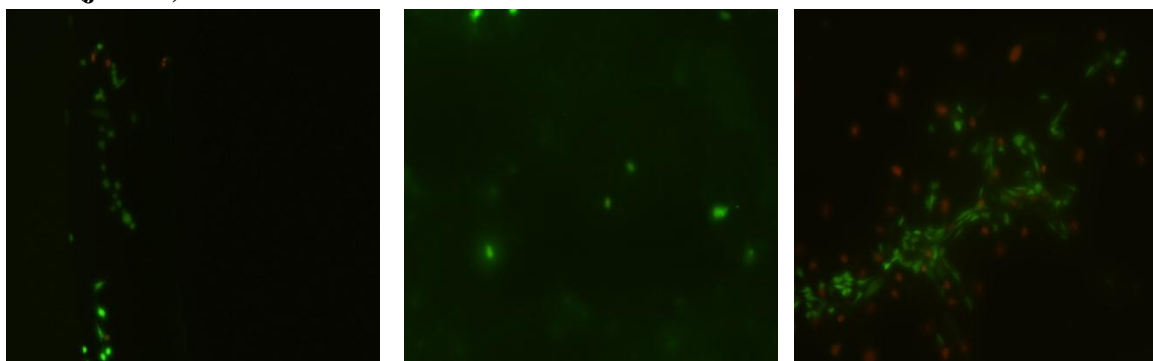


LD

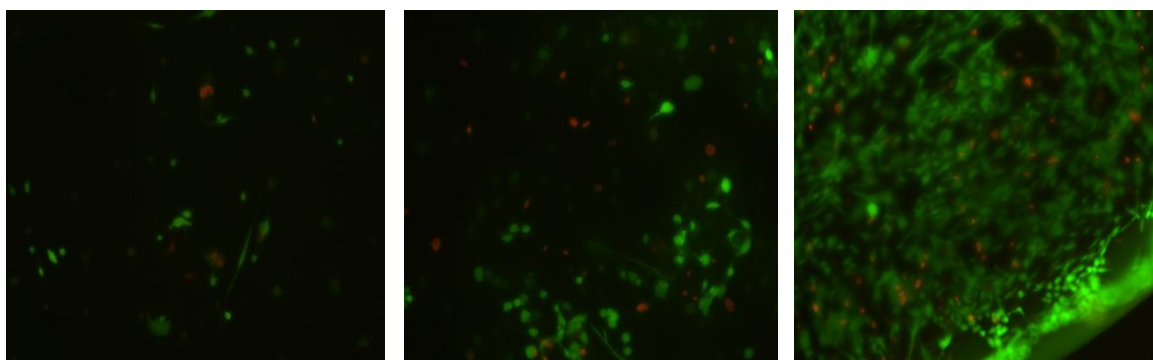
PA 6 (jamka)	1. den	3. den	7.den
---------------------	---------------	---------------	--------------



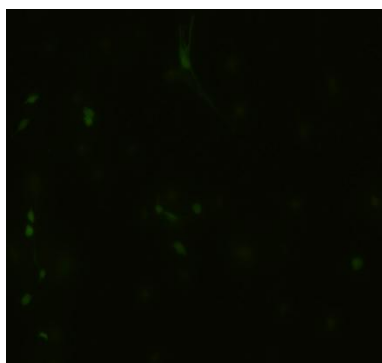
PAN (jamka)	1. den	3. den	7.den
--------------------	---------------	---------------	--------------



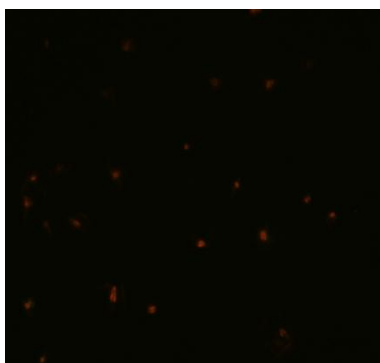
PUR (jamka)	1. den	3. den	7.den
--------------------	---------------	---------------	--------------



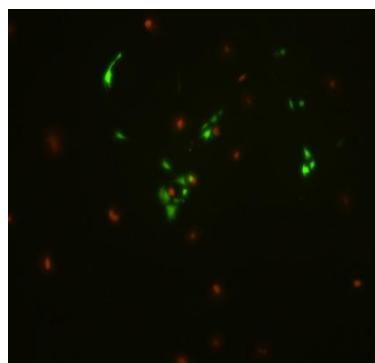
PVA (jamka) 1. den



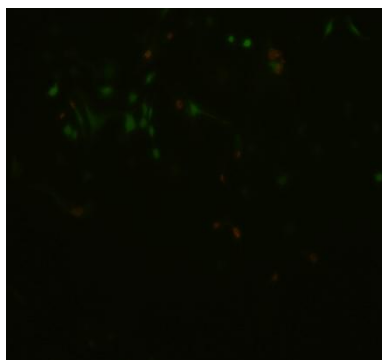
3. den



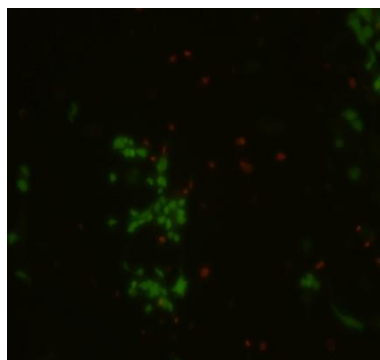
7.den



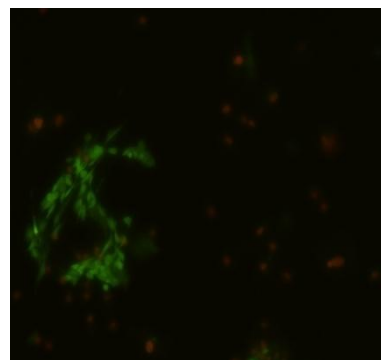
PVDF (jamka) 1. den



3. den



7.den



Příloha B:



Obr. 50: Oddělovací transformátor nutný při elektrostatickém zvlákňování PVDF s PEO.